IRIDOIDGLYKOSIDE AUS DURANTA REPENS L.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Helmut Timm
aus Berlin

Berlin 1975

IRIDOIDGLYKOSIDE AUS DURANTA REPENS L.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Helmut Timm
aus Berlin

Berlin 1975

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Referent: Professor Dr. H. Rimpler

Korreferent: Professor Dr. H. Möhrle

Tag der mündlichen Prüfung: 22. April 1975

Druck: Der Präsident der Freien Universität Berlin – Zentrale Universitätsdruckerei V aA 4, 1 Berlin 41

Meiner Frau
und meinen Eltern gewidmet

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Professor Dr. H. Rimpler durchgeführt.

Besonders herzlich möchte ich Herrn Professor Dr. H. Rimpler für seine Bemühungen danken, mich mit den wissenschaftlichen Arbeitsmethoden vertraut zu machen, für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat und für die zahlreichen Ratschläge und Anregungen, die besonders wertvoll für mich waren.

Ich danke Frau H. Pistor für die vielen praktischen Ratschläge während meiner Labortätigkeit und Herrn W. Bähr für die Ausführung der Fotoarbeiten.

Allen Mitarbeitern am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie danke ich für die gute Zusammenarbeit.

Seite

I EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG 8

II LITERATURTEIL

Allgemeines - Biosynthese der Iridoide und Secoiridoide 10

Morphologische Merkmale der Verbenaceae und der Gattung Duranta 17

Chemische Merkmale der Verbenaceae 19

Zur Taxonomie der Verbenaceae 22

Bisher durchgeführte Untersuchungen über Duranta repens L. 25

III HAUPTTEIL

IRIDOIDGLYKOSIDE AUS DURANTA REPENS L.

A Isolierung der Iridoidglykoside aus Duranta repens L.

Vortrennung - Gewinnung der Iridoidfraktionen 26

Feintrennung der Iridoidester Durantosid I (DP-D1), Durantosid II (DP-D2) und Durantosid III (DP-D3) 28

Versuch der dc-analytischen Identifizierung des Hebenstreitia-Glykosides C 29

B Strukturbestimmung der Iridoidglykoside

1 Lamiid (DP-A)

Spektroskopische Untersuchung der Verbindung DP-A 31

Spektroskopische Untersuchung der Acetate der Verbindung DP-A 38

Identifizierung der Verbindung DP-A als Lamiid 41

2 Durantosid I (DP-D1), Durantosid II (DP-D2) und Durantosid III (DP-D3)

Spektroskopische Untersuchung der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 43

Alkalische Hydrolyse der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 55

Seite

Identifizierung der Zimtsäuren DP-DS1, DP-DS2 und DP-DS3 56

Spektroskopische Untersuchung der Iridoidsäuren 57

Methylierung der Verbindung DP-DH 61

Identifizierung der Verbindung DP-DHM als Lamiid 61

Spektroskopische Untersuchung der Acetate und Identifizierung der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 62

IV EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Angaben 70

Isolierung der Iridoidglykoside DP-A, DP-D1, DP-D2 und DP-D3 72

Eigenschaften der Verbindung DP-A (Lamiid) 74

Acetylierung der Verbindung DP-A 75

Eigenschaften der Verbindung DP-A Ac I (Lamiidpentaacetat) 76

Eigenschaften der Verbindung DP-A Ac II (Lamiidhexaacetat) 77

Eigenschaften der Verbindung DP-D1 (Durantosid I) 78

Eigenschaften der Verbindung DP-D2 (Durantosid II) 79

Eigenschaften der Verbindung DP-D3 (Durantosid III) 80

Alkalische Hydrolyse der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 81

Eigenschaften der Verbindung DP-DH (Lamiidsäure) 84

Methylierung der Verbindung DP-DH 85

Acetylierung der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 86

Eigenschaften der Verbindung DP-D1 Ac I (Durantosid-I-Tetra-acetat) 87

Eigenschaften der Verbindung DP-D1 Ac II (Durantosid-I-Penta-acetat) 88

Eigenschaften der Verbindung DP-D2 Ac I (Durantosid-II-Tetra-acetat) 89

Eigenschaften der Verbindung DP-D2 Ac II (Durantosid-II-Penta-acetat) 90

Eigenschaften der Verbindung DP-D3 Ac I (Durantosid-III-Tetra-acetat)

Seite

Eigenschaften der Verbindung DP-D3 Ac II (Durantosid-III-Pentaacetat) 92

V DISKUSSION 93

VI ZUSAMMENFASSUNG 95

VII LITERATURANGABEN 96

VIII LEBENSLAUF 101

I EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Über die iridoiden Pflanzeninhaltsstoffe aus der Familie der Verbenaceae sind bis vor kurzem noch relativ wenige Arbeiten veröffentlicht worden. Das Auftreten von Pseudoindikanen (= Iridoide) war dagegen schon längere Zeit bekannt. Bereits 1880 konnte GRESHOFF (1) ihr Vorkommen in zwölf Verbena-Arten anhand von Farbreaktionen nachweisen. Als erstes definiertes Iridoid isolierte 1908 BOURDIER (2) aus Verbena officinalis Verbenalin. Ebenfalls Verbenalin konnte CHEYMOL (3) 1937 in weiteren Verbena-Arten nachweisen. 1958 klärten HALPERN und SCHMID (4) die Struktur des Plumierids auf und definierten es als β-Glykosid eines Halbacetales. 1960 gelang es dann BÜCHI und MANNING (5) die endgültige Struktur für Verbenalin zu ermitteln. Bis heute sind etwa 50 Iridoidglykoside bekannt geworden.

WINDE (6) und in besonderem Maße HEGNAUER (63) konnten zeigen, daß diese Stoffgruppe ein wertvolles Hilfsmittel zur Klärung taxonomischer Fragen darstellt. Bezieht man die Secoiridoidglykoside, die Indolalkaloide sowie die anderen Alkaloide mit secoiridoiden Strukturelementen in die Betrachtungen mit ein, so ergibt sich nach neueren Untersuchungen über die Verbreitung im Pflanzenreich (7-10), daß diese Verbindungen in bestimmten Vertretern der Unterklasse Rosidae, so in den Ordnungen Saxifragales, Celastrales, Cornales und Ericales, sowie der Unterklasse Asteridae, nämlich in den Ordnungen Gentianales, Dipsacales, Oleales, Scrophulariales und Lamiales zu finden sind.

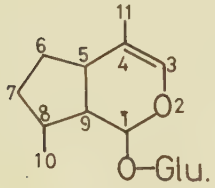
Im Rahmen dieser Arbeit sind die Familien Lamiaceae (= Labiatae) und Verbenaceae von besonderem Interesse. Ihre enge Verwandschaft wird von fast allen Systematikern hervorgehoben. Eine strenge Trennung in zwei Familien, so wie sie z.B. von BRIQUET (11) vorgenommen wurde, wird daher zum Teil als unnatürlich angesehen. Aufgrund zu geringer Kenntnisse über die phytogenetischen Zusammenhänge ist diese Trennung

im allgemeinen bis heute beibehalten worden. Aufgrund einer statistisch-numerischen Ähnlichkeitsbestimmung von 400 Arten aus der Familie der Lamiaceae und Verbenaceae gaben erst kürzlich EL-GAZZAR und WATSON (12) wichtige Hinweise für eine Neuordnung. Anhand von 46 Merkmalen ergaben sich fünf Gruppen phänetischer Ähnlichkeit, die ihrerseits nur durch unterschiedliche Pollenentwicklung in die beiden Hauptgruppen A und B getrennt werden können (vgl. hierzu auch 13). Interessanterweise stehen neuere Untersuchungen KOOIMANS (10) über die Verbreitung von Iridoid-glykosiden in Lamiaceen damit in Korrelation. Sämtliche Arten, die Iridoid-glykoside führen, sind danach der Gruppe A zuzuordnen, während die iridoidfreien Arten zu Gruppe B gehören. Alle Verbenaceen-Arten, die von EL-GAZZAR und WATSON untersucht wurden, stehen in Gruppe A (Tab. 2). Eine umfangreichere Untersuchung über die Verbreitung der Iridoidglykoside innerhalb der Familie der Verbenaceae ist bisher noch nicht durchgeführt worden. Trotz der relativ geringen Zahl untersuchter Arten ist anzunehmen, daß diese Stoffgruppe bei den Verbenaceae sehr häufig vorkommt und zu den taxonomisch-charakteristischen Inhaltsstoffen gezählt werden kann. Bisher wurden lediglich 19 Arten, die sich auf drei Unterfamilien verteilen, auf ihren Iridoidgehalt hin überprüft (Tab. 1). Berücksichtigt man dabei außerdem, daß davon 8 Arten der Gattung Vitex und 8 Arten der Gattung Verbena untersucht wurden, so kann man sagen, daß bisher noch wenige Arten aus verschiedenen Gattungen erfaßt wurden (Tab. 1). Um einen größeren Überblick über die Verbreitung dieser Stoffklasse innerhalb der Familie zu bekommen, sollten daher weitere Untersuchungen auch auf andere Gattungen ausgedehnt werden. Die vorliegende Arbeit befaßt sich nun mit der Isolierung und Identifizierung der mengenmäßig vorherrschenden Iridoide aus Duranta repens L., einer Pflanze, die zur Gattung Duranta und zur Unterfamilie Verbenoideae gezählt wird. Anschließend soll diskutiert werden, inwieweit die Ergebnisse mit den bisher durchgeführten Untersuchungen in Einklang stehen.

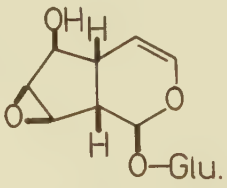
II LITERATURTEIL

Allgemeines - Biosynthese der Iridoide und Secoiridoide

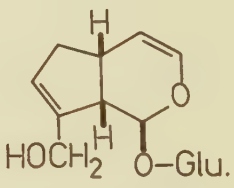
Als Iridoide bezeichnet man sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, mit einem Cyclopentanodihydropyran-Ringsystem, die aus einem Grundgerüst von zehn Kohlenstoffatomen aufgebaut sind 1. Es sind jedoch auch Iridoide bekannt, die, wie z.B. Unedosid 2 (14), aus acht und, wie Aucubin 3 (15), aus neun Kohlenstoffatomen bestehen.



1

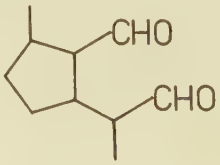


2



3

Charakteristisch für diese Verbindungsklasse ist die Enoläther-Gruppierung mit der Doppelbindung zwischen C-3 und C-4. Alle bisher bekannten Iridoide, die als Glykoside vorliegen, sind β-Glucoside oder Diglucoside. Die Ringe sind cis-verknüpft. Die Bezeichnung dieser Stoffklasse als Iridoide geht auf einen Vorschlag von BRIGGS et al. (16) zurück, in Anlehnung an Iridodial 4, einem Ameisensekretstoff, der erstmals aus der australischen Ameise Iridomyrmex detectus isoliert wurde (17).



4

Die Iridoide sind in chemischer Hinsicht dadurch gekennzeichnet, daß sie im allgemeinen nach Zusatz von Mineralsäuren bläulich-violette Färbung annehmen und nach einiger Zeit schwarze Polymerisate bilden. Aufgrund dieser Farbreaktionen sowie der Ähnlichkeit zur oxydativen Chromogenbildung, wurden die Iridoide zuvor meist als Pseudoindikane bezeichnet. Wie anfänglich bereits erwähnt, zählt man die Verbindungen mit Secoiridoidstruktur ebenfalls zu den "iridoidartigen" Verbindungen. Sie sind nach neueren Untersuchungen wesentlich am Aufbau einiger Alkaloide (Indolalkaloide) beteiligt. Für die allgemeine Betrachtung der mutmaßlichen Verwandschaftszusammenhänge der betreffenden Pflanzenfamilien sind die biogenetischen Zusammenhänge von großer Wichtigkeit. Im Folgenden soll jedoch auf die Biosynthese dieser Verbindungen nur in der gebotenen Kürze eingegangen werden.

Betrachtet man die Struktur der Iridoide, so liegt die Vermutung nahe, daß es sich bei dieser Verbindungsklasse um Monoterpene im weiteren Sinne handelt. Diese werden in der Pflanze ausgehend von C_2-Acetat-Einheiten über Mevalonsäure und Isopentenylpyrophosphat als aktive Isopreneinheit gebildet (18). Entsprechend dieser Ansicht verabreichten YEOWELL et al. (19) Blättern von Plumiera acutifolia markiertes Natriummevalonat. Dabei stellten sie fest, daß die Verbindungen spezifisch in den Aglykonteil des isolierten Plumierids eingebaut wurden (s.a. 20). Ähnliche Versuche unternahmen HÜNI et al. (21) an Verbena officinalis und Verbena thapsus. Sie isolierten aktives Verbenalin bzw. Aucubin, wobei die Versuche mit Aucubin nicht so erfolgreich verliefen. Ergebnisse von Untersuchungen zur Biosynthese des Loganin wurden 1967 gleichzeitig von BATTERSBY et al. (22) und BRECHBÜHLER-BADER et al. (23) veröffentlicht. Beide Arbeitsgruppen beobachteten an Menyanthes trifoliata die spezifische Inkorporation von markiertem Geraniol in Loganin. Darüber hinaus konnten BRECHBÜHLER-BADER et al. beweisen, daß die Methylgruppe vom Ester des Loganin von L-Methylmethionin stammt. Diese Untersuchungen bestätigten damit

den monoterpenoiden Ursprung der Iridoidglykoside. Die folgenden Arbeiten konzentrierten sich nun darauf, weitere Zwischenstufen bei der Biosynthese, so insbesondere auch die höher oxidierten Vorläufer, zu finden. So stellten INOUYE et al. (24, 25) fest, daß u.a. 7-Desoxyloganinsäure, Loganin und 10-Desoxygeniposidsäure wichtige Zwischenstufen bei der Bildung einiger Iridoidglykoside darstellen (Abb. 1). 1968 hatten COSCIA et al. (26) gezeigt, daß Loganinsäure und Gentiopicrosid in Swertia carolinensis aus Mevalonsäure als Vorläufer gebildet werden und begründeten darauf die Vermutung, daß eine biogenetische Verwandschaft dieser Stoffe besteht. INOUYE et al. (27-31) bewiesen kurz darauf, daß der Aufbau der bitteren Glucoside aus der Familie der Gentianaceen über den Iridoidweg verläuft und bestätigten damit diese Vermutung. Die Autoren schlugen vor, diesen Verbindungstyp als Secoiridoide bzw. als Secoiridoid-Glykoside zu bezeichnen, um die biogenetische Verwandschaft zu verdeutlichen. Ein Biogeneseschema ist in Abb. 2 aufgezeigt.

Secoiridoide sind darüber hinaus vielfach auch noch Bestandteile der Indolalkaloide. Über die Entstehung dieser C_9- und C_{10}-Bausteine wurden zuvor die verschiedensten Theorien aufgestellt. WENKERT (33) und THOMAS (32) vertraten aufgrund von Strukturvergleichen die Meinung, daß diese "Nichtaminanteile" monoterpenoiden Ursprungs sind und durch Umwandlung eines Cyclopentan-Grundgerüstes entstehen. Diese These hat sich prinzipiell als richtig erwiesen. Nachdem GOEGGEL et al. (34) und MONEY et al. (35) gezeigt hatten, daß Mevalonsäure in die drei Haupttypen der Indolalkaloide (Corynante-, Aspidosperma- und Iboga-Typ) eingebaut wird, folgten weitere umfangreiche Untersuchungen, so in besonderem Maße von der Arbeitsgruppe um BATTERSBY (36-56). Sie zeigten u.a., daß Loganin eine wichtige Zwischenstufe darstellt. INOUYE et al. (28, 29) wiesen nach, daß Swerosid ein Vorläufer bei der Biosynthese des Vindolin darstellt und konnten damit erstmals die direkte Überführung eines Secoiridoids in ein Indolalkaloid zeigen. Kurz darauf isolierten BATTERSBY et al. (48) die Glykoside

Foliamenthin, Dihydrofoliamenthin und Menthiafolin aus Menyanthes trifoliata, Verbindungen, die maskiertes Secologanin enthalten. Im Anschluß daran bewiesen sie, daß Secologanin in die drei Hauptalkaloidtypen eingebaut wird. In der folgenden Zeit befaßte man sich hauptsächlich mit der Frage, wie die Umwandlung des Secoiridoidgerüstes in die Alkaloide vom Aspidosperma und Iboga Typ erfolgt. Der wahrscheinliche Biosyntheseweg einiger Indolalkaloide ist in Abb. 3 dargestellt. Als bemerkenswert erscheint es, daß dem Loganin offensichtlich eine Art Schlüsselposition bei der Bildung der einzelnen Verbindungstypen zukommt.

Abschließend sei angeführt, daß noch zwei weitere Gruppen von Verbindungen existieren, die wahrscheinlich in enger biogenetischer Verwandschaft zu den Iridoiden bzw. Secoiridoiden stehen. Es sind dies die sogenannten "Iridoidalkaloide", wie sie besonders in den Gentianales, Dipsacales und Tubiflorae zu finden sind und die Gruppe der Valepotriate, die vom Strukturtyp her als echte Iridoide zu bezeichnen sind.

Diese beiden Gruppen sind bisher noch nicht eingehend einer biogenetischen Prüfung unterzogen worden. Jedoch erscheint es als wahrscheinlich, daß diese Verbindungen einen ähnlichen Bildungsweg durchlaufen wie die Iridoide oder Secoiridoide, zumal sie oft mit diesen zusammen in derselben Familie zu finden sind.

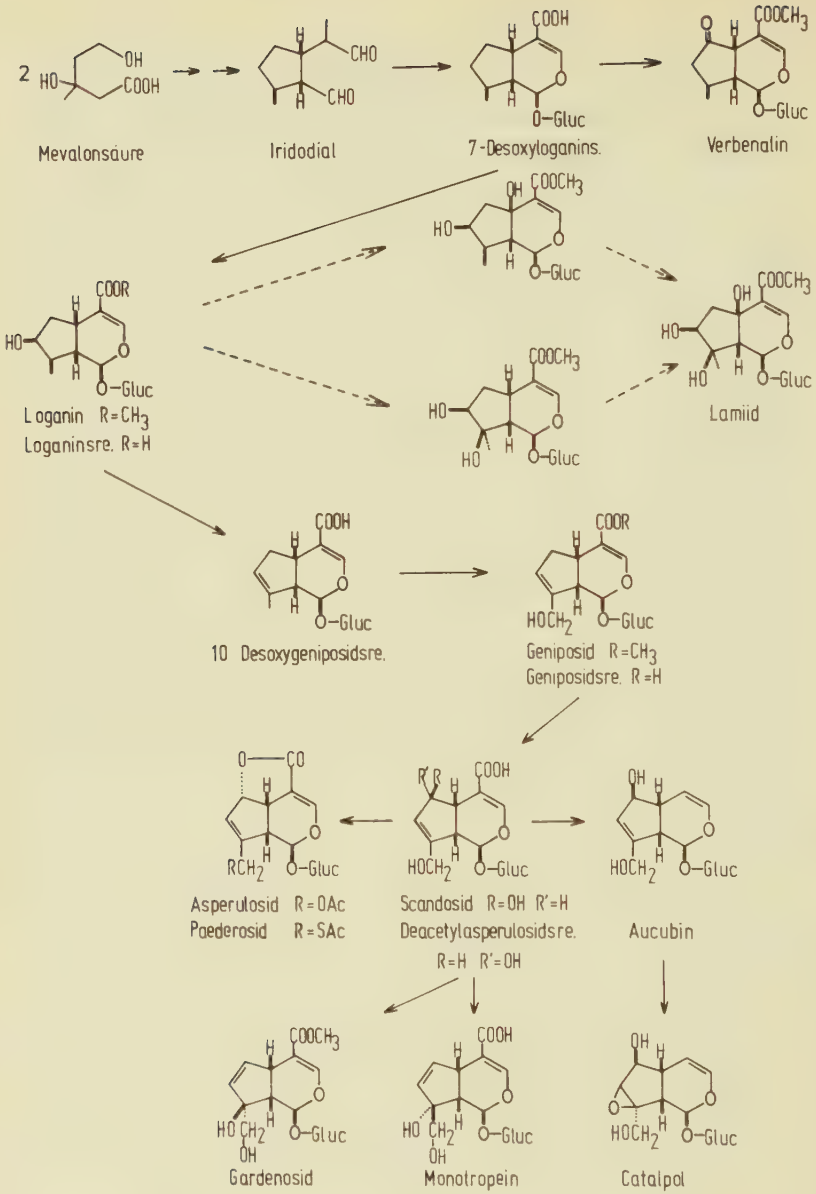


Abb. 1: Biosynthese einiger Iridoidglykoside nach INOUYE (⟶)
und mutmaßliche Biosynthese des Lamiid (- - ->).

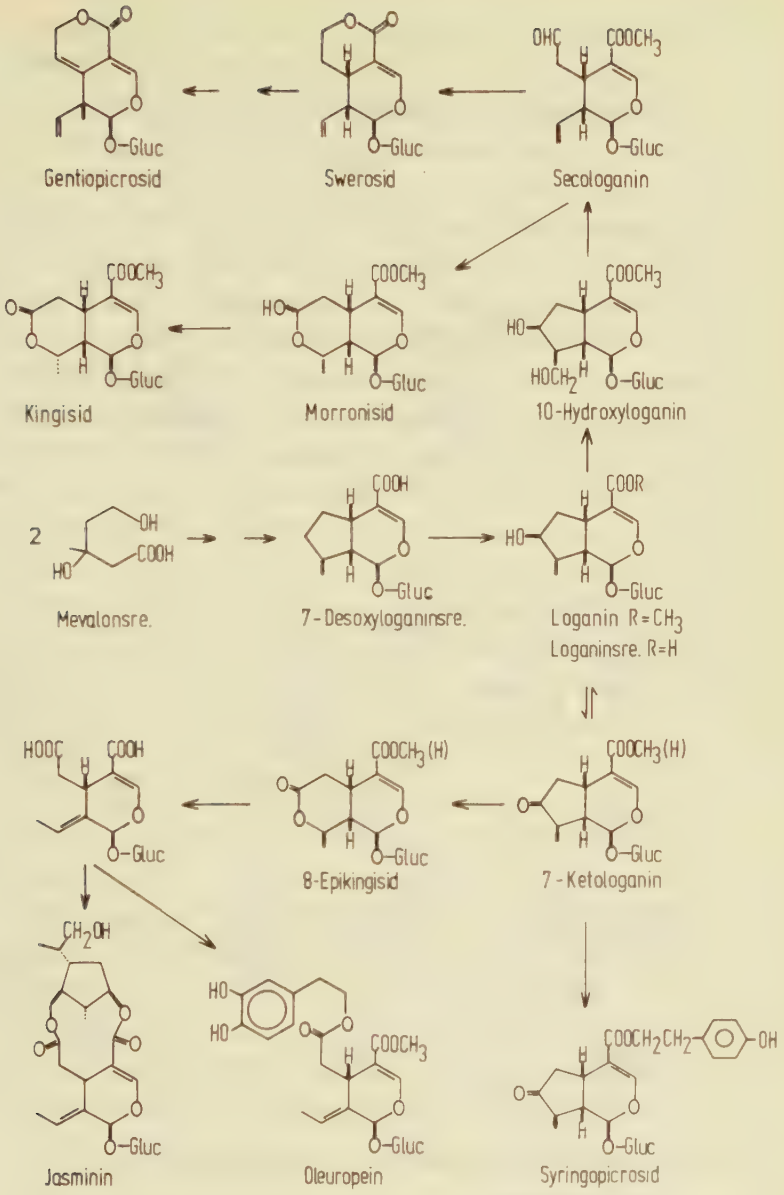


Abb.2: Biosynthese einiger Secoiridoidglykoside nach INOUYE

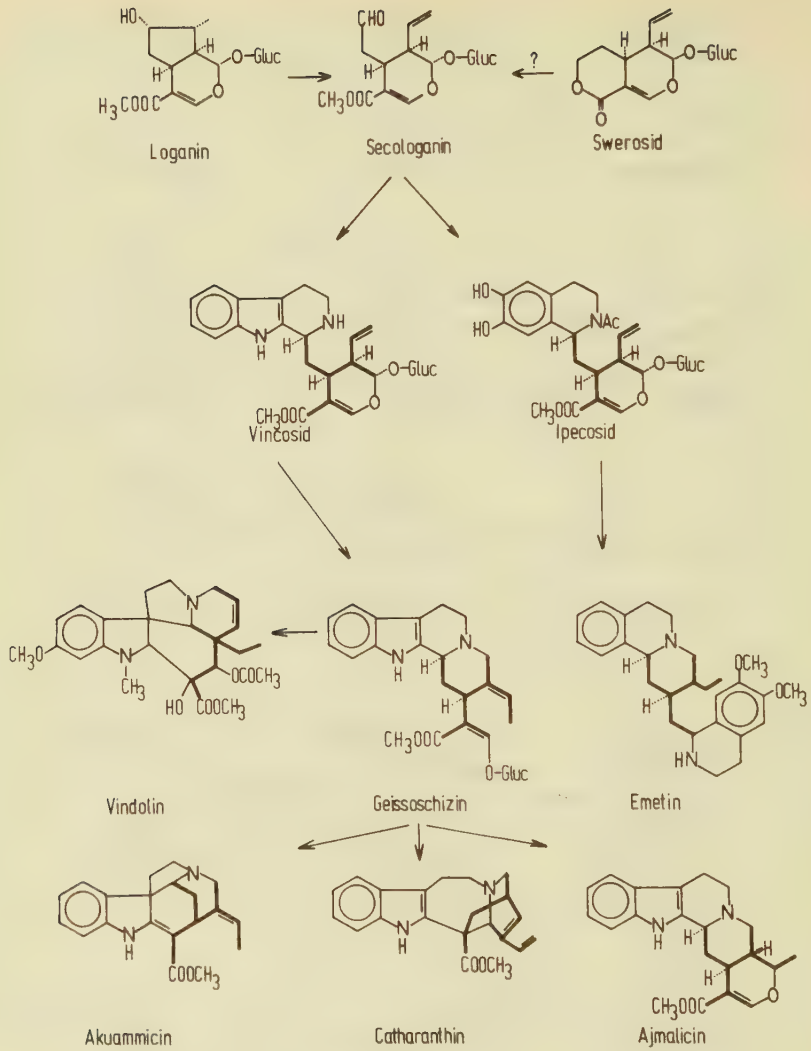


Abb.3: Biosynthese einiger Indol- und Ipecacuanhaalkaloide (ohne Zwischenstufen)

Morphologische Merkmale der Verbenaceae und der Gattung Duranta

Die Familie der Verbenaceae umfaßt nach MELCHIOR etwa 2600 Arten mit ca. 100 Gattungen. Vom Habitus sind es in der Regel Sträucher oder Halbsträucher, oft aber auch Bäume, die in den tropischen oder subtropischen Regionen zu finden sind. Die wichtigsten morphologischen Merkmale seien im Folgenden kurz genannt. Die Blätter sind fast immer gegenständig, sehr selten wechselständig oder wirtelig angeordnet. Die zygomorphen Blüten sind zu zymösen oder auch racemösen Infloreszenzen vereinigt. Von den vier Staubblättern sind zwei meist stark entwickelt. Das Gynäceum besteht meist aus zwei Karpellen mit je zwei Samenanlagen. Der Fruchtknoten ist oberständig und hat einen terminalen Griffel. Durch Ausbildung falscher Scheidewände bilden sich in der Regel vier mehr oder weniger vollständig voneinander getrennte einsamige Fächer, die zur Reifezeit gewöhnlich in zwei oder vier Steinfrüchte (Klausen) zerfallen. Die Stellung der Gattung Duranta innerhalb der Verbenaceae ist nicht umstritten. Die meisten Botaniker ordnen sie in die Unterfamilie Verbenoideae ein.
So umfaßt die Gattung nach MELCHIOR etwa 25 Arten, die zum größten Teil in den tropischen und subtropischen Regionen beheimatet sind. Fast alle sind kahle oder filzige, oft auch mit Dornen besetzte Sträucher oder Bäume, mit kreuzgegenständigen oder wirtelig angeordneten Blättern.
Die kleinen gestielten Blüten sind zu razemösen Infloreszenzen zusammengefaßt. Sie bestehen aus einem röhren- oder glockenförmigen Kelch, dessen fünf Rippen in spitzen Zähnen enden. Die über den Kelch hinausragende röhrenförmige Blumenkrone erweitert sich nach oben zu einem 5-spältigen, ungleich gelappten Saum, dessen innere Oberfläche meist dünn behaart ist. Das Androezeum besteht aus zwei kurzen und zwei langen Staubblättern, die in der Mitte der Kronröhre oder höher inseriert sind. Der mehr oder weniger 8-fächerige Fruchtknoten wird von vier 2-fächerigen Karpellen ge-

bildet; in jedem Fach befindet sich eine Samenanlage. Der Griffel ist im allgemeinen weniger oder gleich hoch wie die kürzeren Staubblätter. Die Narbe ist ungleich vierspaltig. Der sich zur Reifezeit vergrößernde Kelch umschließt die Frucht fast vollständig, ohne jedoch mit ihr zu verwachsen. Im Rahmen dieser Arbeit ist die Art Duranta repens L. syn. Duranta plumieri Jacq. von besonderer Bedeutung, einer Art, von der mehrere Varietäten beschrieben sind. Es handelt sich dabei um einen recht vielgestaltigen Strauch oder kleinen Baum bis zu 6 m Höhe. Die schmalen Zweige sind hängend oder z.T. kriechend. Die Dornen stehen wie die Blätter kreuzgegenständig. Die ovalen Blätter sind bis zu 5 cm lang und 3,5 cm breit. Oberhalb der Mitte sind sie gezähnt. Sie enden keilförmig in den Stiel. Die endständigen racenösen Blütenstände sind 5-15 cm lang und entspringen aus den Achseln von Tragblättern. Die kleinen Blüten stehen aufrecht oder etwas zurückgebogen. Die blau bis violett gefärbte Korolle überragt den tubenförmigen Kelch und erweitert sich nach oben hin zu einem 5-spältigen gelappten Saum, dessen Durchmesser 7-9 mm beträgt. Die gelben kugelförmigen Früchte sind von dem zur Reifezeit sich vergrößernden Kelch vollständig umschlossen und enden in einem kurzen gebogenen Schnabel. Die Pflanze ist in den tropischen bis subtropischen Gebieten der Erde beheimatet.

Chemische Merkmale der Verbenaceae

Trotz der weiten Verbreitung und des verhältnismäßig großen Umfanges der Verbenaceae ist das Wissen über die taxoncharakteristischen Inhaltsstoffe der Familie noch gering. Zu den häufiger nachgewiesenen Stoffgruppen gehören Iridoide, Diterpene, Triterpene, ätherische Öle und phenolische Verbindungen. Eine umfassende Übersicht über die chemischen Merkmale der Familie gibt HEGNAUER (63), so daß an dieser Stelle auf diese Arbeit verwiesen werden kann. Es soll darum hier nur eine kurze Aufstellung der Arten gegeben werden, in denen definierte Iridoide gefunden wurden (Tab. 1). Danach konnten alle drei Iridoid-Typen nachgewiesen werden. Bemerkenswert erscheint das Auftreten von C_8-Iridoiden in den Stilbe Arten zu sein, da dieser Iridoid-Typ bisher nur noch in Arbutus unedo gefunden werden konnte. RIMPLER (73) hält daher eine Sonderstellung der Gattung Stilbe für möglich. In der Gattung Vitex akkumulieren die C_9-Iridoide Aucubin und Agnusid. Dagegen scheint für die Gattung Verbena das C_{10}-Iridoid Verbenalin typisch zu sein. Verbenalin wurde bisher aus insgesamt 8 Verbena Arten isoliert. Aus Verbena officinalis und Verbena hastata konnte darüber hinaus die verbenalinähnliche Verbindung Hastatosid (69) isoliert werden. Ein weiteres Iridoid, das Lamiid, konnte aus Chascanum cernuum nachgewiesen werden.

Art	Unterfamilie	Gattung	Arten-zahl	Iridoid	Literatur	Iridoid-Typ
Vitex agnus castus L.				Aucubin, Agnusid	64/65	
Vitex negundo L.				Aucubin, Agnusid	66	
Vitex trifolia L.				Aucubin, Agnusid	66	
Vitex lucens T.				Aucubin, Agnusid	66	
Vitex pseudo negundo (HAUSSKN.)	Viticoideae	Vitex	270	Aucubin, Agnusid	67	C_9
Vitex rehmanni GÜRKE				Aucubin, Agnusid	67	
Vitex sereti DE WILD				Agnusid	67	
Vitex megapotamica (Spreng.)				Agnusid	68	
Verbena officinalis L.				Verbenalin, Hastatosid	2/69	
Verbena hastata				Verbenalin, Hastatosid	65/70/69	
Verbena littoralis H.B. et K.				Verbenalin,	70	
Verbena prostrata R.BR.	Verbenoideae	Verbena	230	Verbenalin	70	C_{10}
(=Verbena lasiostachys LINK)						
Verbena stricta VENT.				Verbenalin	70/65	
Verbena supina L.				Verbenalin	70	
Verbena teucrioides HOOKER				Verbenalin	70	
Verbena urticifolia L.				Verbenalin	70/65	

Art	Unterfamilie	Gattung	Arten-zahl	Iridoid	Literatur	Iridoid-Typ
Chascanum cernuum	Verbenoideae	Chascanum	25	Lamiid	71	C_{10}
Stilbe phylicoides D.C. Source	Stilboideae	Stilbe	6	Unedosid	72	C_8
Stilbe ericoides L.				Unedosid, Stilbericosid	73/72	

Tab. 1: Verbenaceen-Arten, in denen definierte Iridoide nachgewiesen wurden (Systematik nach MELCHIOR)

Zur Taxonomie der Verbenaceae

In Anlehnung an die erstmals von SCHAUER (57) vorgenommene Gliederung der Verbenaceae unterteilte BRIQUET (11) diese Familie in 7 Unterfamilien mit 66 Gattungen. Die systematische Einordnung erfolgte dabei nach morphologischen Gesichtspunkten, so besonders nach dem Bau der Blütenstände, der Ausbildung der Früchte, der Beschaffenheit der Samen, sowie der Stellung der Samenanlagen. Besonders weist BRIQUET auf die schon eingangs erwähnte enge Verwandschaft der Verbenaceae zu den Lamiaceae hin, behält jedoch die Trennung in zwei Familien bei. Aufgrund des Gynäceumbaus beider Familien gab JUNELL (58) einen Vorschlag zur Neugliederung. Danach unterschied er zwei Gruppen, die durch unterschiedliche Plazentation der Samenanlagen zu unterscheiden sind. Bei der ersten Gruppe sind die Samenanlagen an den Fruchtblatträndern befestigt, bei der zweiten, auf der Innenseite der Fruchtblätter. Abgesehen von der Neugliederung einiger Gattungen zählt JUNELL zur ersten Gruppe, den Verbenaceae, nur die Verbenoideae nach BRIQUET, während er die verbleibenden Unterfamilien der Verbenaceae der zweiten Gruppe, den Labiatae, zuordnet. Die Unterfamilien Stilboideae trennte er aufgrund ihres abweichenden Gynäceumbaus als eigenständige Familie ganz ab (Stilbinaceae). In fast allen neueren Systematiken wird dagegen die Trennung der beiden Familien, Lamiaceae und Verbenaceae , mehr im Sinne BRIQUETS beibehalten. MOLDENKE (59) zählt nur die Unterfamilien Verbenoideae, Viticoideae und Caryopteroideae zu den Verbenaceae. AIRY-SHAW (6O) folgt im wesentlichen dieser Auffassung, wobei er lediglich noch die Unterfamilie Nycthantoideae mit zu den Verbenaceae zählt. Die Unterfamilien Stilboideae, Symphorematoideae und Avicennioideae sensu BRIQUET bilden eigene Familien. MELCHIOR (61) ordnet diese jedoch wieder als Unterfamilien zu den Verbenaceae ein, wobei er besonders den Bau der Ovarien als Verwandschaftsmerkmal heranzieht. Er teilt die Verbenaceae in die Unterfamilien Viticoideae, Chloanthoideae, Verbenoideae, Nycthantoideae, Caryopteridoideae, Stilboideae, Symphorematoideae und Avicennioideae

ein. Als auffallendstes Unterscheidungsmerkmal zu den Lamiaceae erscheint die Gestaltung des Griffels. Bei den Lamiaceae ist er zwischen die Fruchtblätter verlagert (gynobasisch), während er bei den Verbenaceae meist auf dem Scheitel des Fruchtknotens sitzt (terminal). Nach TAKHTAJAN (62) läßt sich jedoch keine klare morphologische Grenze zwischen den beiden Familien ziehen, so daß eine Trennung zum wesentlichen Teil als künstlich angesehen werden kann. In diesem Sinne können die Untersuchungen von EL-GAZZAR und WATSON (12) als ein wichtiger Schritt hin zu einer Neugliederung aufgefaßt werden, insbesondere auch in Bezug auf die chemotaxonomischen Ergebnisse KOOIMANS (10), die als wichtige Ergänzung dazu gelten können und für die vorliegende Arbeit wichtig sind. In Tab. 2 sind die Ergebnisse EL-GAZZARS und WATSONS aufgeführt. Die Gattungen der Gruppe B sind hier nicht wiedergegeben, da alle untersuchten Verbenaceen-Arten der Gruppe A zugeordnet wurden. Die entsprechenden Gattungsnamen der Verbenaceae sind in Tab. 2 unterstrichen. Danach enthalten die Gruppen 745, 743 und 742 (Gruppe II) nur Verbenaceen Arten, die nach BRIQUET sämtlich zur Unterfamilie der Verbenoideae gezählt werden.

Gruppe A

Gruppe I-783

Gruppe 700:	Prostanthera
Gruppe 757:	Hemigenia, Hemiandra, Westringia, Microcorys Stilbe, Campylostachys, Pityrodia, Newcastelia, Lachnostachys

Gruppe I-790

Gruppe 779:	Ajuga, Amethystea, Teucrium, Leucosceptum, Isanthus, Trichostema, Salazaria, Synandra, Melittis, Brazoria, Physostegia, Phyllostegia, Gomphostemma Prasium, Premna, Gmelina, Holmskioldia
Gruppe 782:	Clerodendrum, Caryopteris, Aegiphilia, Amasonia, Callicarpa, Vitex

	Gruppe II- 745
Gruppe 745:	Lippa, Lantana
	Gruppe II- 784
Gruppe 743:	Verbena, Priva
Gruppe 742:	Stachytarpheta, Bouchea, Citharexylum, Petrea
	Gruppe III-789
Gruppe 760:	Pogostemon, Dysophylla, Colebrookea
Gruppe 761:	Scutellaria, Achyrospermum, Chanaephacos
Gruppe 776:	Anisomeles, Leucas, Acrotome, Thuspeinanta, Marrubium, Sideritis, Comanthosphace, Rostrinucula
	Gruppe III- 786
Gruppe 769:	Eriophyton, Notochaete, Lagochilus, Eremostachys, Moluccella, Wiedemannia, Leonurus, Lamium, Galeopsis, Betonica p.p.,Stachys p.p.
Gruppe 775:	Ballota, Phlomis, Roylea, Otostegia, Leonotis, Colquhounia, Craniotome,Stachys p.p., Betonica p.p.

Tab. 2: Neuordnung der Labiatae und Verbenaceae nach EL-GAZZAR und WATSON (gemeinsames Merkmal der Gruppe A: tricolpate oder tricolporate Pollen)

Bisher durchgeführte Untersuchungen über Duranta repens L.

In der Volksmedizin fand Duranta repens keine Anwendung, so daß die Informationen über diese Pflanze als spärlich bezeichnet werden können. Als erste gezielt durchgeführte Untersuchung kann daher die schon eingangs erwähnte Arbeit GRESHOFF's gelten, in der er u.a. auch mehrere Arten der Verbenaceae untersuchte. Dabei stellte er fest, daß die wäßrige Lösung eines alkoholischen Extraktes aus Duranta repens nach Salzsäurezusatz starke Fällung verursacht. Diese Reaktion ist, wie wir heute wissen, auf den Iridoidgehalt zurückzuführen. Auch CHEYMOL (3) beobachtete an Duranta repens nach Zusatz von Schwefelsäure eine schwarze Fällung. Außerdem wies er glykosidische Bestandteile nach, so ein durch Emulsin spaltbares Heterosid. Eine Gesamtanalyse des Fruchtfleisches führte 1904 PECKOLT (74) durch, bei der er die folgenden Bestandteile nachwies: 80,24 % Wasser, 4,0 % Asche, 0,09 % Bitterstoff, 0,535 % Harzsäure, 0,382 % Wachssubstanz, 0,81 % Glucose und Apfelsäure. In den Blättern wies er 10,1 % Asche, 0,025 % Durantin, 68,57 % Wasser, eine alkaloidartige Substanz, 0,175 % amorphen Bitterstoff, 0,6 % Fett, 1,3 % Harz und 1,25 % Harzsäure nach. Ebenfalls aus den Früchten isolierte KAPIL (75) β-Sitosterol und Ursolsäure. Nach CHOPRA et al. (76) enthalten die Früchte ein Alkaloid ähnlich dem Narcotin. Dagegen erhielten YOUSEF et al. (77) bei einer neueren Untersuchung ein Alkaloid, für das sie die Struktur eines 7H-2-Pyridin-Derivates vorschlugen. Aus den Blättern isolierten SANKARA SUBRAMANIAN (78) die Flavonoide Pectolinaringenin und Scutellarein.

KOOIMAN (9) beschrieb bei Untersuchungen über die Verbreitung von Iridoiden in der Familie der Scrophulariaceae ein unbekanntes Glykosid aus Hebenstreitia comosa Hochst, Hebenstreitia Glykosid C, und wies chromatographisch nach, daß das gleiche Glykosid auch in Duranta repens (und in Phlomis russeliana Benth., Labiatae) vorkommt.

III HAUPTTEIL

IRIDOIDGLYKOSIDE AUS DURANTA REPENS L.

A Isolierung der Iridoidglykoside aus Duranta repens L.

Vortrennung - Gewinnung der Iridoidfraktionen

Um chromatographisch festzustellen in welcher Konzentration und Verteilung Iridoide aus Duranta repens zu erwarten sind, wurde die luftgetrocknete Gesamtdroge zunächst mit Äthanol extrahiert. Von diesem Extrakt wurde, wie im Versuchsteil näher beschrieben, der hydrophile Teil an Celite mit Methylenchlorid/Methanol abgetrennt und dann über Aluminiumoxid mit Wasser vorgereinigt. Der nach dem Eindampfen verbleibende Extrakt wurde der dc-Prüfung unterzogen (Tab. 3). Danach ergaben sich, nach steigenden Rf-Werten geordnet, die Flecken A. B, C und D, wobei A und D mengenmäßig weit überwogen. Alle Verbindungen sind UV-aktiv und können nach Ansprühen mit Vanillin-Schwefelsäure sichtbar gemacht werden.

Bezeichnung	Rf im Fließm. 1	Rf im Fließm. 2	UV	Farbreakt. m. V./Sch.
A	0,063	0,19	+	dunkelblau
B	0,31	0,28	+	blau
C	0,41	0,40	+	blau
D	0,60	0,46	+	violett

Tab. 3: dc-Prüfung des hydrophilen Extraktes aus Duranta repens L.

Fließmittel 1: Methylenchlorid/Methanol/Wasser 80:20:2

Fließmittel 2: Butanol/Methanol/Wasser 4:1:5 (Oberphase)

DC-Vorversuche ergaben, daß zur Isolierung der beiden Hauptkomponenten A und D die Bedingungen der analytischen DC-Trennung mit dem Fließmittel 1 dann am besten auf die präparative Säulenchromatographie übertragen werden können, wenn eine Gradientenelution erfolgt. Daher wurde der Extrakt der Droge mit Kieselgel als Adsorbens und Methylenchlorid/Methanol/Wasser (Anfangskonzentration 90:10:1, Endkonzentration 70:30:3) als mobiler Phase eluiert und so die Hauptkomponenten A und D abgetrennt, die im Folgenden mit der Arbeitsbezeichnung DP-A und DP-D belegt wurden. Die Fraktionen mit den Komponenten B und C wurden nicht weiter untersucht, da ihre Konzentration zu gering war. Aus Tab. 4 ist ersichtlich, daß die Verbindungen der Fraktionen A und D das für Iridoide typische Verhalten zeigen. Mit dem Reagenz nach TRIM (79) zeigen sie positive Reaktion und reagieren auf Mineralsäurezusatz mit Blaufärbung, um nach einiger Zeit schwarze Polymerisate zu bilden.

Fraktionen	Ausbeute in g	Ausbeute in %	Reaktion n. TRIM	Verhalten geg. Mineralsäure
DP-A	1,95	0,26	+	Blaufärbung Nach 10 Minuten schwarzer Niederschlag
DP-D	1,38	0,18	+	Blaufärbung Nach 10 Minuten schwarzer Niederschlag

Tab. 4: Ausbeuten und Reaktionsprüfungen der Fraktionen DP-A und DP-D

Fraktion A enthielt eine einheitliche Verbindung, die als Lamiid 5 identifiziert wurde (s. dazu S. 31).

Feintrennung der Iridoidester Durantosid I (DP-D1), Durantosid II (DP-D2) und Durantosid III (DP-D3)

Fraktion D enthielt noch drei Verbindungen, die sich sehr ähnlich verhalten und auch dc-analytisch schwer zu unterscheiden sind (Tab. 5). Die mit der Arbeitsbezeichnung DP-D3 belegte Verbindung absorbiert im langwelligen UV-Bereich (360 nm) und ist dadurch relativ gut von den beiden anderen Verbindungen DP-D1 und DP-D2 zu unterscheiden. Die dc-analytische Prüfung in Butanol/Toluol/Wasser 1:1:2 ergab, daß DP-D3 etwas hydrophiler ist als die verbleibenden Verbindungen. Dadurch war es möglich, DP-D3 mit Hilfe der präparativen Säulenchromatographie an Kieselgel mit Butanol/Toluol/Wasser 1:1:2 (Oberphase) als Elutionsmittel (Verhältnis Substanzgemisch : Kieselgel 1 : 800) abzutrennen. Nach mehrmaliger Reinigung durch Gelfiltration ergaben sich 230 mg dc-einheitliches, farbloses und amorphes DP-D3.
Wie im Versuchsteil näher beschrieben, konnten die Verbindungen DP-D1 und DP-D2 durch Gegenstromverteilung in Chloroform/Äthanol/Wasser 4:1:4 getrennt werden. Dabei wurden 530 mg dc-einheitliches DP-D1 und 315 mg dc-einheitliches DP-D2 abgetrennt. Beide Verbindungen lagen als farblose, amorphe Substanzen vor.

Versuch der dc-analytischen Identifizierung des Hebenstreitia-Glykosides C

Wie bereits am Anfang erwähnt wurde, findet sich bei KOOIMAN (9) der Hinweis, daß ein aus Hebenstreitia comosa (Scrophulariaceae) isoliertes Iridoid unbekannter Struktur, genannt Hebenstreitia-Glykosid C, mit einem in Duranta plumieri Jacq. (=Duranta repens L.)vorkommenden Glykosid chromatographisch identisch ist. KOOIMAN benutzte zur dc-analytischen Charakterisierung dieser Verbindung die in Tab. 5 aufgeführten Fließmittel 1 bis 4. Sie wurden für die Prüfung der hier isolierten Verbindungen herangezogen, um so eine Vergleichsmöglichkeit zu haben. Aus Tab. 5 geht hervor, daß die ermittelten Rf-Werte für Lamiid noch am besten mit den Werten für Hebenstreitia-Glykosid C verglichen werden können. Beim Ansprühen mit Vanillin-Schwefelsäure werden geringe Farbunterschiede sichtbar. So färbt sich DP-D1 und Lamiid dunkelblau, DP-D2 rot bis rot-violett und DP-D3 blau. Diese Unterschiede sind jedoch nur kurzzeitig zu beobachten.

Fließmittel	1	2	3	4	5	6
Hebenstreitia-Glycosid C	0,29	0,30	0,46	0,13	-	-
Lamiid (DP-A)	0,31	0,25	0,53	0,15	-	-
Fraktion D	0,48	0,48	0,56	0,40	0,43	0,07-0,14
DP-D1	0,51	0,52	0,59	0,43	0,48	0,13
DP-D2	0,51	0,50	0,59	0,42	0,45	0,12
DP-D3	0,47	0,46	0,59	0,38	0,43	0,073

Fließmittel 1 Butanol/Äthanol/Wasser 40:11:19

Fließmittel 2 Butanol/Essigsäure/Wasser 5:1:4

Fließmittel 3 Butanol/Pyridin/Wasser 6:4:3

Fließmittel 4 Butanol gesättigt mit Wasser

Fließmittel 5 Butanol/Methanol/Wasser 4:1:5

Fließmittel 6 Butanol/Toluol/Wasser 1:1:2

Tab. 5: DC-analytische Charakterisierung der Iridoide aus Duranta repens

B Strukturbestimmung der Iridoidglykoside

1 Lamiid (DP-A)

Spektroskopische Untersuchung der Verbindung DP-A

Die durch Gradientenelution abgetrennte Fraktion A war dc-einheitlich und wurde anschließend zweimal durch Chromatographie an Sephadex mit Wasser als Elutionsmittel gereinigt. Es ergaben sich 1,95 g einer farblosen, amorphen Substanz. Es wurden davon das UV-, IR-, NMR- und das Massenspektrum angefertigt (Abb. 4-7). Die folgenden spektroskopischen Daten sprechen für das Vorliegen eines iridoiden Grundkörpers.

Das mit Wasser als Lösungsmittel aufgenommene UV-Spektrum weist bei 230 nm ($\log\varepsilon$ 4,006) ein Maximum auf. Die für Iridoide typische Enol-Äther Gruppierung verursacht bei etwa 207-210 nm ($\log\varepsilon$ 3-4) ein Absorptionsmaximum. Steht dagegen die Doppelbindung mit einem Carbonsäureester am C (4) in Konjugation, so wird das Absorptionsmaximum nach etwa 230 nm ($\log\varepsilon$ 3-4) verschoben. Demnach zeigt die Verbindung DP-A das für den zuletzt genannten Iridoidtyp gemäße Verhalten. Im NMR-Spektrum erscheint bei 3,85 ppm ein Singulett, dessen Integration 3 Protonen entspricht. Iridoide mit einem Methylester am C (11) zeigen Signale mit ähnlicher chemischer Verschiebung. Weiterhin ist ein Singulett bei 7,62 ppm (1H) zu beobachten. Dieses Signal sollte dem Proton am C (3) zugeordnet werden. Die starke Entschirmung ist hier auf die Enol-Äther Gruppierung und die Carbonylfunktion zurückzuführen. Die chemische Verschiebung dieses Signals stimmt sehr gut mit den entsprechenden Werten für Iridoide vergleichbarer Teilstruktur überein (80). Schließlich sprechen für diese Gruppierung auch die starken Absorptionsbanden bei 1630 und 1700 cm^{-1} des vorliegenden IR-Spektrums.

Nach den bisherigen Beobachtungen über die Massenspektroskopie der Iridoide sind die Molekülionen in der Regel nicht nachzuweisen, da die wichtigste Primärreaktion die Spaltung der glykosidischen Bindung darstellt

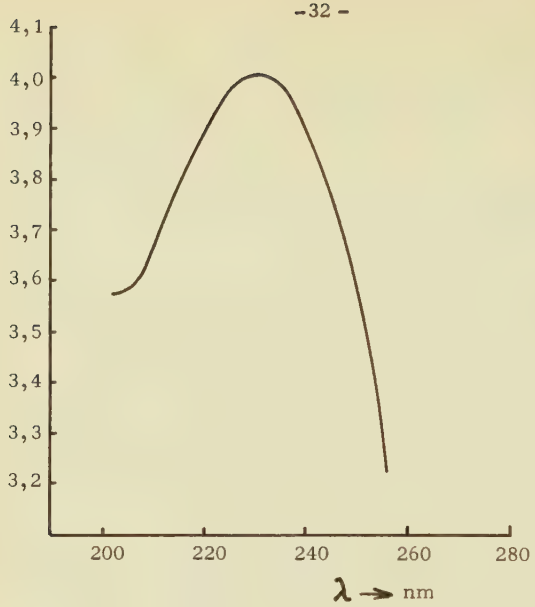


Abb. 4: UV-Spektrum der Verbindung DP-A (in H_2O)

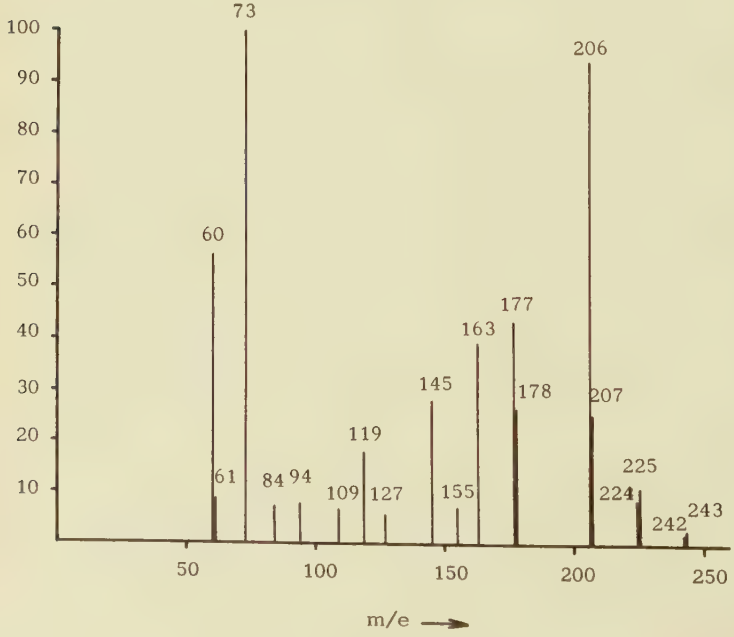


Abb. 5: Massenspektrum der Verbindung DP-A

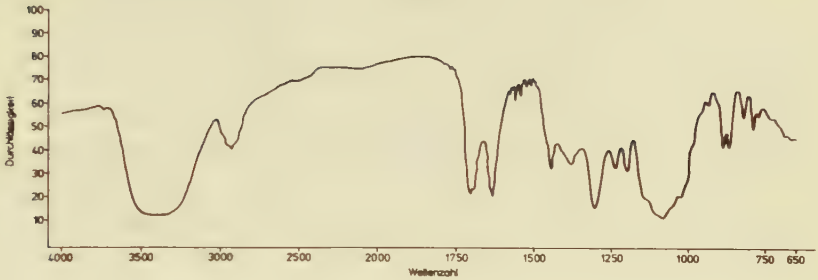


Abb. 6: IR-Spektrum der Verbindung DP-A (KBr-Preßling)

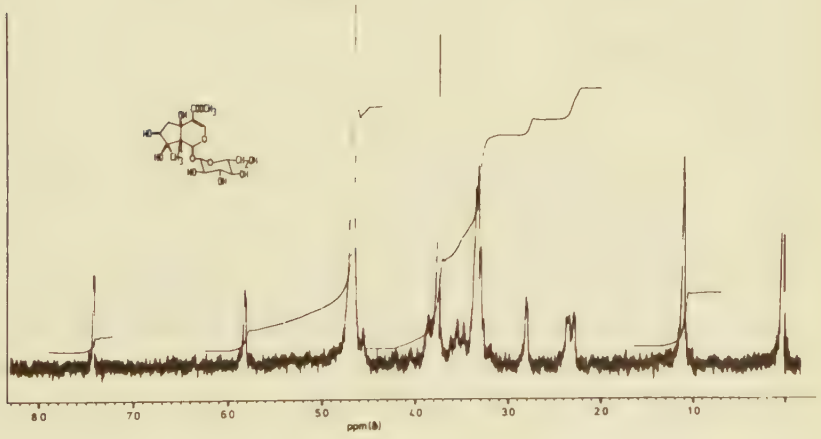


Abb. 7: NMR-Spektrum der Verbindung DP-A (Lösungsmittel CD_3OD)

und mit einer Wasserstoffübertragung auf das Aglykon verbunden ist. So kann das Bruchstück mit der höchsten Massenzahl dem Aglykon selbst, oder auch dem durch 18 Masseneinheiten ärmeren Bruchstück zugeordnet werden, denn oft wird eine weitere Fragmentation durch die Abspaltung von Wasser eingeleitet. Im Massenspektrum der Verbindung DP-A ist das Höchste geradzahlige Bruchstück bei m/e 242 (1,8) zu beobachten. Ein Fragment mit größerer Intensität findet man dagegen bei m/e 243 (2,6). Dieses Bruchstück sollte durch die Oniumspaltung entstanden sein, wie sie auch von WEINGES (81) formuliert wurde (Abb. 8).

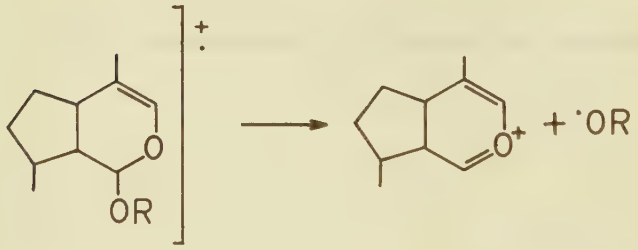
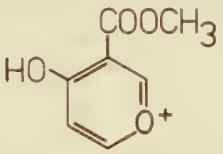


Abb. 8: Oniumspaltung bei Iridoidglykosiden

Demnach müßte das Aglykon der Verbindung DP-A ein Molekulargewicht von 260 aufweisen. Darüber hinaus findet man im oberen Bereich des vorliegenden Massenspektrums Bruchstücke, die durch Wasserabspaltung entstanden sind: 243-225-207 und 242-224-206.

Die Verbindung DP-A sollte daher noch drei freie Hydroxygruppen besitzen.

Für Iridoide mit einer Carboxymethylgruppe am C(4) wird in der Literatur (82) ein Fragment der MZ 139 beschrieben. Dieses Bruchstück entsteht durch Abspaltung des Fünfringes und durch Elimination eines OH-Radikales aus dem Dihydropyran-Ring und kann somit Aufschluß über die Substitution geben. Bei der Verbindung DP-A ist ein Bruchstück der MZ 155 zu beobachten. Diesem Fragment wurde die folgende Struktur zugeordnet (Abb. 9):



m/e 155

Abb. 9: Struktur des Bruchstückes der Massenzahl 155

Daraus geht hervor, daß eine freie Hydroxygruppe am tertiär gebundenen C(5) lokalisiert ist.

Eine weitere Hydroxygruppe sollte an das C(8) gebunden sein. Im NMR-Spektrum findet sich bei 1,10 ppm ein Singulett, dessen Integration drei Protonen ergibt. Dieses Signal ist einer Methylgruppe am C(8) zuzuordnen. Die chemische Verschiebung dieses Signales einerseits, sowie die Tatsache, daß es ein scharfes Singulett bildet andererseits, deuten darauf hin, daß an das C(8) zusätzlich eine Hydroxygruppe gebunden sein sollte.

Aus der bisherigen Diskussion können so folgende Schlüsse gezogen werden:

1. Bei der Verbindung DP-A handelt es sich um ein C_{10}-Iridoid mit einer Methoxycarbonylgruppe am C(4).
2. Die Verbindung besitzt drei freie Hydroxygruppen, von denen eine an das C(5) und eine zweite an das C(8) gebunden sein sollte.

Folgende Teilstruktur kann daher aufgestellt werden (Abb. 10):

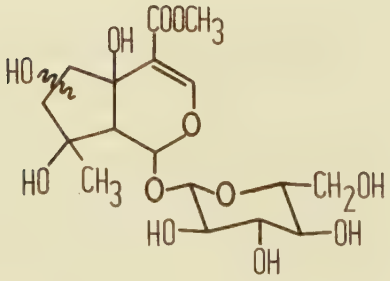


Abb. 10: Teilstruktur der Verbindung DP-A

Daß es sich bei der vorliegenden Verbindung um ein Glykosid handelt, geht u.a. auch aus dem Massenspektrum hervor. So sind alle charakteristischen Bruchstücke vorhanden, die bei der Fragmentation von Glucose entstehen:

m/e 163-145-127-109-73-61-60

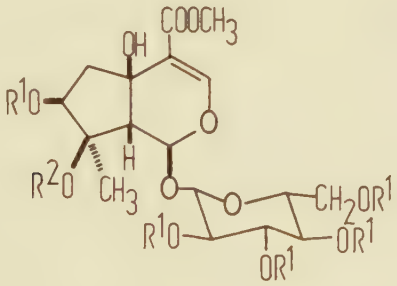
Im NMR-Spektrum erscheinen die Signale der Zuckerprotonen im Bereich von 3,4-4,2 und 4,6-5,0 ppm und überlagern z.T. die Signale des Aglykons, so daß eine Interpretation zusätzlich erschwert wird. Es hat sich daher als günstig erwiesen, Iridoide zu acetylieren. Dadurch besteht die Möglichkeit, durch Integration der Acetylprotonen auf die Anzahl der Hydroxylgruppen im Molekül zu schließen. Außerdem werden die Protonen, also auch die Zuckerprotonen, die sich an den gleichen C-Atomen wie die Hydroxygruppen befinden, infolge der Acetylierung zu tieferem Feld verschoben.

Spektroskopische Untersuchung der Acetate der Verbindung DP-A

Die dc-Prüfung zeigte, daß bei der Acetylierung der Verbindung DP-A zwei Acetate entstanden waren. Diese wurden durch präparative Säulenchromatographie an Kieselgel mit Toluol/Aceton 8:2 getrennt und aus Äthanol kristallisiert.

Aus den NMR-Spektren der Acetate (Tab. 6) ist zu ersehen, daß es sich dabei für DP-A Ac I um ein Pentaacetat und für DP-A Ac II um ein Hexaacetat handelt. Aus dem IR-Spektrum des Hexaacetates geht hervor, daß diese Verbindung noch eine freie Hydroxygruppe trägt, die bei den gewählten Bedingungen nicht acetylierbar ist (s. experimenteller Teil). Dabei sollte es sich um die tertiär gebundene Hydroxygruppe am C(5) handeln. Im NMR-Spektrum der Verbindung DP-A erscheint das Singulett der Methylgruppe am C(8) bei 1,10 ppm. Im Spektrum des Hexaacetates ist dieses Signal deutlich um 0,3 ppm nach tieferem Feld verschoben. Damit wird die getroffene Aussage, daß am C(8) zusätzlich eine freie Hydroxygruppe gebunden ist, bestätigt. Weiterhin ist zu erwarten, daß beim Hexaacetat ein am C(9) gebundenes Proton entschirmt wird. Protonen am C(9) geben ein Signal im Bereich von 2-3 ppm (80). Tatsächlich findet man im Spektrum von DP-A ein Duplett (J=1 Hz) bei 2,78 ppm, dessen Integration einem Proton entspricht. Ein weiteres Duplett mit der gleichen Kopplungskonstante findet sich bei 5,82 ppm. Dieses Signal sollte dem Proton am C(1) zugeordnet werden. Im Spektrum des Hexaacetates ist das Duplett für das Proton am C(9) erwartungsgemäß um 0,4 ppm nach tieferem Feld verschoben, während es beim Pentaacetat nur um den Betrag von 0,1 ppm nach tieferem Feld verschoben ist. Bei der Acetylierung der Verbindung DP-A fällt das Hexaacetat nur als Nebenprodukt von geringer Ausbeute an. Offenbar ist die räumliche Anordnung der Hydroxygruppe am C(8) noch derart günstig, daß die Acetylierung bis zu einem bestimmten Anteil ablaufen kann. Die noch freie Hydroxygruppe des Hexaacetates sollte, wie

weiter oben bereits angegeben,am tertiär gebundenen C(5) lokalisiert sein. Dafür spricht auch das scharfe Singulett des Protons am C(3) bei 7,42 ppm. Eine Fernkoppelung, wie sie bei Anwesenheit eines Protons am C(5) zu beobachten wäre, würde eine Kopplung von ca. 2 Hz verursachen. Außerdem müßte ein zusätzliches Singulett im Bereich von 2-3 ppm (Methin proton) zu beobachten sein, was hier nicht zutrifft. Vielmehr ist im Bereich von 2,23-2,42 ein Multiplett zu verzeichnen, dessen Integration zwei Protonen ergibt. Sowohl beim Pentaacetat als auch beim Hexaacetat ist dieses Signal um ca. 0,1 ppm nach tieferem Feld verschoben. Diese Verschiebung kann durch eine benachbarte Acylgruppe hervorgerufen werden. Daher sollten die beiden Protonen dem C(6) oder C(7) zugeordnet werden. Eine dritte,sekundär gebundene Hydroxygruppe müßte dann an das entsprechende benachbarte C-Atom gebunden sein. Ein Iridoid, das den zuvor dargelegten Aufbau zeigt und bei dem die sekundäre Hydroxygruppe an das C(7) gebunden ist, wurde von SCARPATI (83) aus Lamium amplexicaule (Labiatae) isoliert und mit dem Namen Lamiid belegt. SCARPATI ermittelte für Lamiid die Struktur 5.



5 $R_1 = R_2 = H$

6 $R_1 = -COCH_3$, $R_2 = H$

7 $R_1 = R_2 = -COCH_3$

Diese Verbindung isolierte RIMPLER (71) auch aus Chascanum cernuum. Das aus Chascanum cernuum isolierte Lamiid wurde im Folgenden als Vergleichssubstanz herangezogen.

Verb.	Lösungsm.	C (3) H	C(6) 2H	C (7) H	C (10) 3H	C (9) 1H
DP-A	CD_3OD	7,42 s	2,23-2,42 m	3,43-3,63	1,10 s	2,80 d (J=1Hz)
DP-A Ac I	$CDCl_3$	7,40 s	2,42-2,53 m	4,60-5,45	1,15 s	2,88 d (J=1 Hz)
DP-A Ac II	$CDCl_3$	7,42 s	2,45-2,56 m	4,60-5,45	1,36 s	3,17 d (J=1 Hz)

Tab. 6: NMR-Daten der Verbindungen DP-A, DP-A Ac I und DP-A Ac II
(60 MHZ, TMS=0)

Identifizierung der Verbindung DP-A als Lamiid

Beim dc-Vergleich von DP-A mit authentischem Lamiid konnten keine Unterschiede festgestellt werden. Ein IR-Vergleichsspektrum (Abb. 11) ergab vollständige Übereinstimmung in allen Einzelheiten.

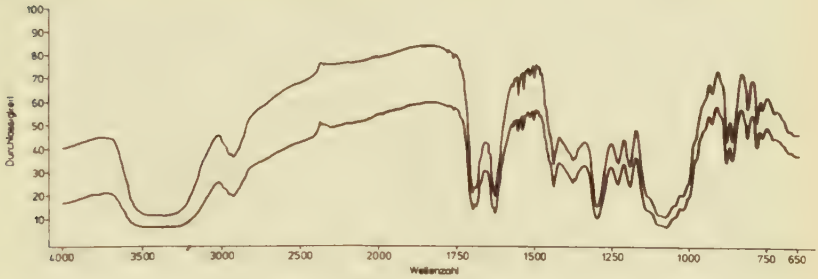


Abb. 11: IR-Vergleichsspektrum der Verbindung DP-A (oberes Spektrum) und authentischem Lamiid (unteres Spektrum).

Die Massenspektren beider Verbindungen zeigten die gleichen Fragmente. Einige wichtige Zerfallswege werden in Abb. 12 interpretiert. Bei den NMR-Spektren konnten ebenfalls keine Unterschiede festgestellt werden. Zur weiteren Absicherung dieser Ergebnisse wurden vom authentischen Lamiid die Acetate 6 und 7 hergestellt. Beim dc-Vergleich konnten keine Unterschiede festgestellt werden. Die Mischschmelzpunkte zeigten keine Depression. Ferner ergab der Vergleich der IR-, NMR- und Massenspektren der Pentaacetate Übereinstimmung in allen Bereichen. Damit war die Identität von DP-A mit Lamiid erwiesen.

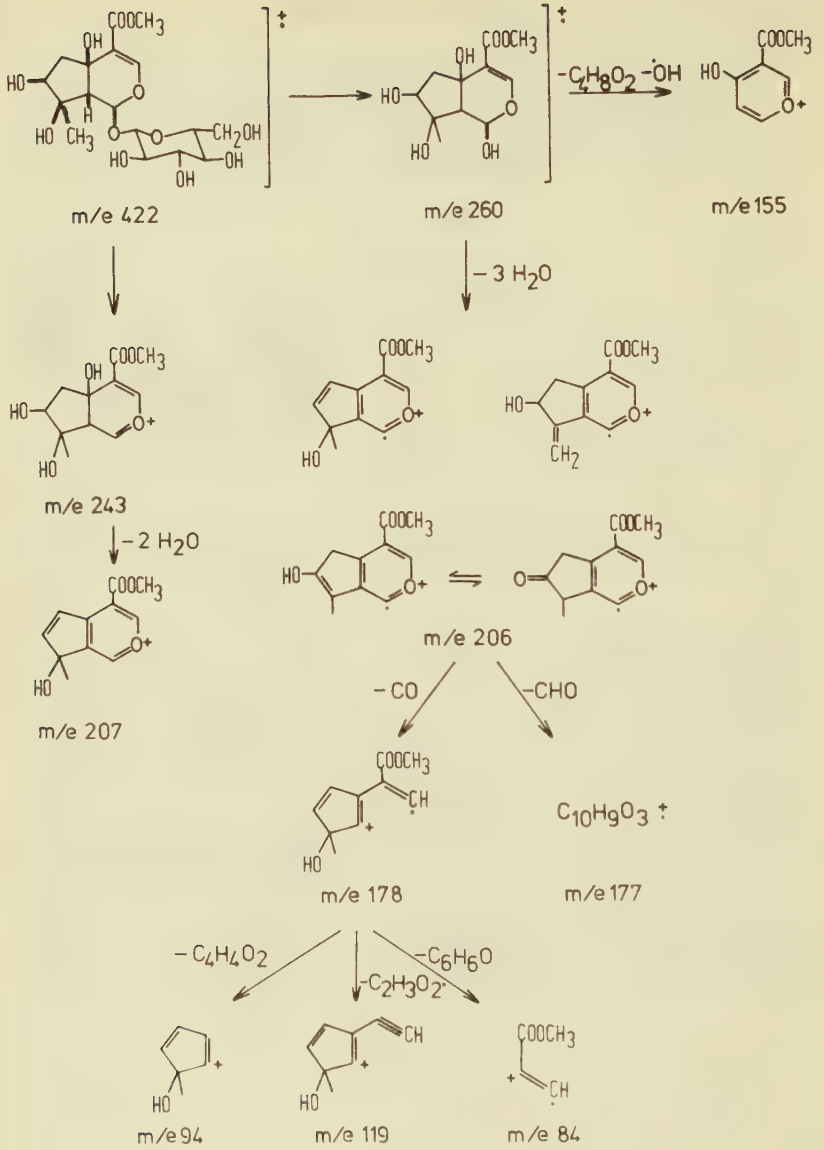


Abb. 12: Massenspektrum der Verbindung DP-A (Lamiid). Einige wichtige Fragmentierungswege (Molekülion nicht nachweisbar).

2 Durantosid I (DP-D1), Durantosid II (DP-D2) und Durantosid III (DP-D3)

Spektroskopische Untersuchung der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3

Von jeder der drei Verbindungen wurde das UV-, IR-, NMR- und das Massenspektrum angefertigt (Abb. 13-24).
In den UV-Spektren beobachtet man, in den für die Enol-Äther Gruppierung typischen Absorptionsbereichen, Maxima bei 224 nm ($\log\varepsilon$ 4,29) für DP-D1, bei 228 nm ($\log\varepsilon$ 4,30) für DP-D2 und bei 226 nm ($\log\varepsilon$ 4,31) für DP-D3. Die IR-Spektren aller drei Verbindungen zeigen bei 1630 cm^{-1} eine starke Bande, die ebenfalls auf die Enol-Äther Gruppierung zurückgeführt werden kann. Untersucht man die NMR-Spektren auf Methylestersignale im Bereich von 3,5-4,0 ppm, so findet man u.a. für jede Verbindung ein Singulett (3H) bei ziemlich genau 3,83 ppm. Alle IR-Spektren weisen außerdem bei 1700 cm^{-1} eine starke Absorptionsbande auf. Wie beim Lamiid sollte daher auch bei den vorliegenden Verbindungen eine Carboxymethylgruppe am C (4) vorhanden sein. Weiterhin ist ein scharfes Singulett bei 7,58 ppm für DP-D1, bei 7,48 ppm für DP-D2 und bei 7,48 für DP-D3 zu beobachten. Diese Signale sollten auf das stark entschirmte Proton am C (3) zurückzuführen sein. Eine Kopplungskonstante ist in keinem Falle nachzuweisen, so daß davon ausgegangen werden kann, daß am C (5) kein weiteres Proton vorhanden ist.
Darüber hinaus sollte es sich bei den vorliegenden Verbindungen um C_{10}-Iridoide handeln, denn alle NMR-Spektren weisen bei etwa 1,18 ppm (s. Abb.) ein Singulett auf, dessen Integration drei Protonen entspricht. Diese Signale sollten wie beim Lamiid auf eine Methylgruppe am C (8) zurückzuführen sein. Aufgrund ihrer chemischen Verschiebung und der Tatsache, daß diese Signale alle ein scharfes Singulett bilden, ist darüber hinaus anzunehmen, daß am C (8) eine Hydroxygruppe gebunden ist. Wäre dagegen ein Proton vorhanden, resultierte daraus eine Aufspaltung des Methylestersignales, wie z.B. beim Verbenalin. Wie aus Tab. 7

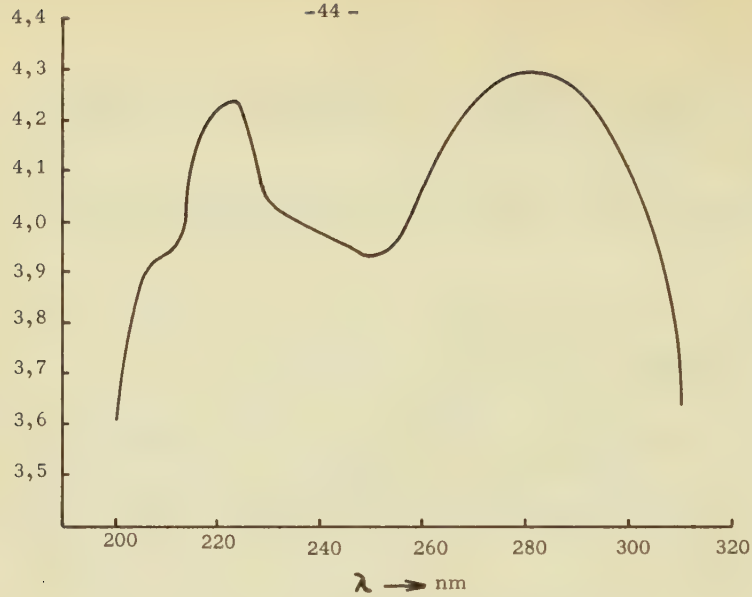


Abb. 13: UV-Spektrum der Verbindung DP-D1 (in H_2O)

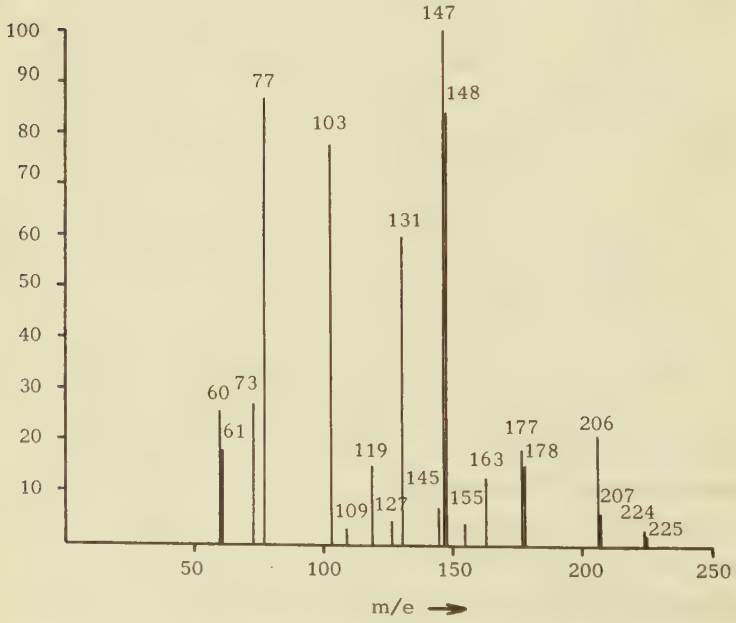


Abb. 14: Massenspektrum der Verbindung DP-D1

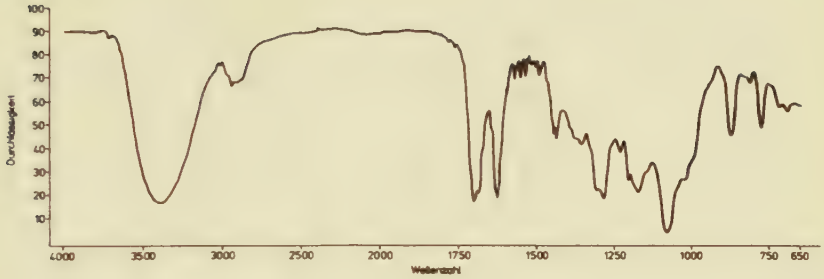


Abb. 15: IR-Spektrum der Verbindung DP-D1 (KBr-Preßling)

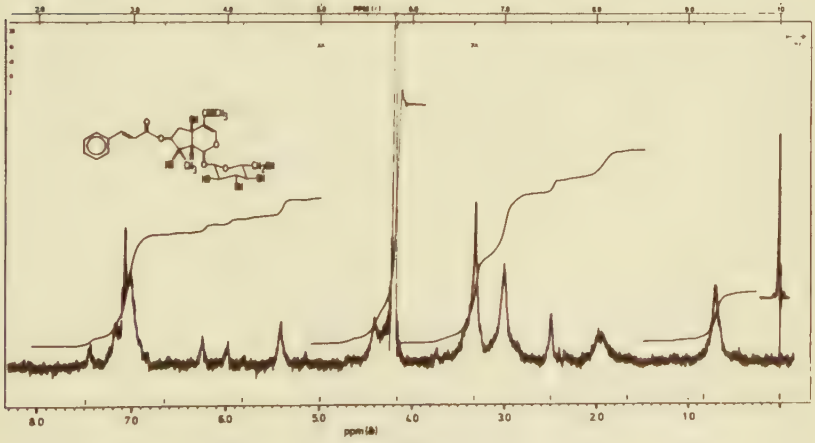


Abb. 16: NMR-Spektrum der Verbindung DP-D1 (Lösungsmittel CD_3OD)

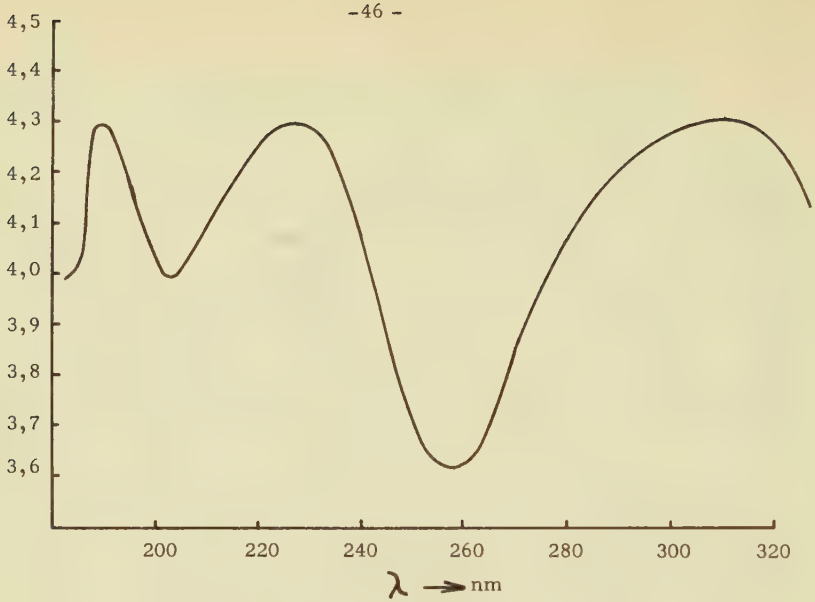


Abb. 17: UV-Spektrum der Verbindung DP-D2 (in H_2O)

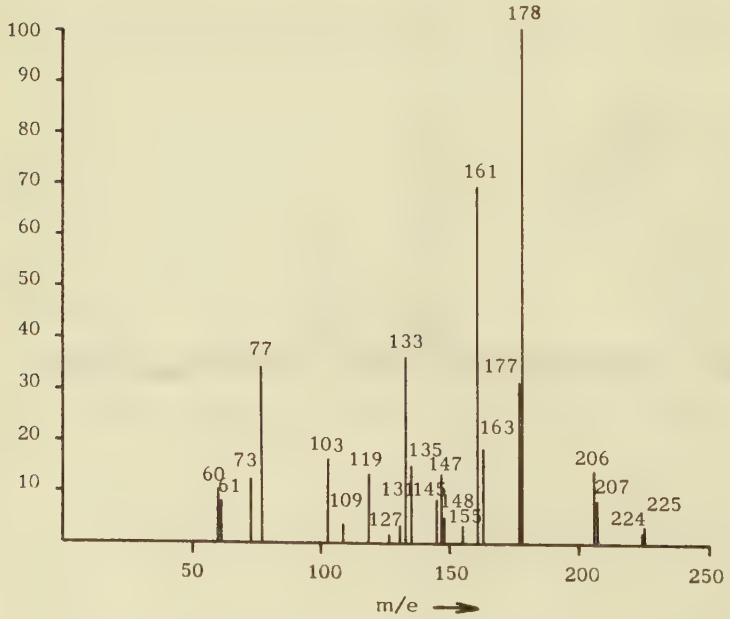


Abb. 18: Massenspektrum der Verbindung DP-D2

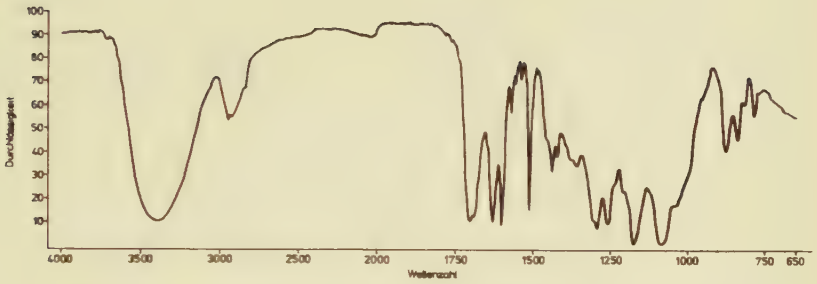


Abb. 19: IR-Spektrum der Verbindung DP-D2 (KBr-Preßling)

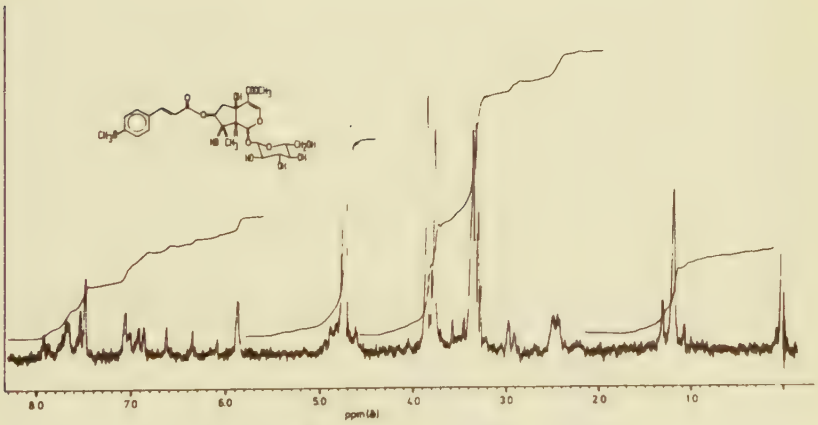


Abb. 2o: NMR-Spektrum der Verbindung DP-D2 (Lösungsmittel CD_3OD)

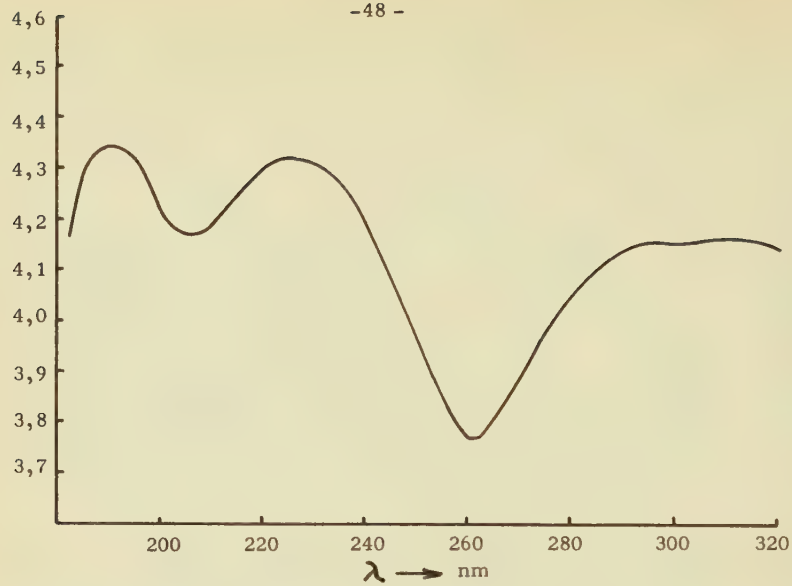


Abb.21: UV-Spektrum der Verbindung DP-D3 (in H_2O)

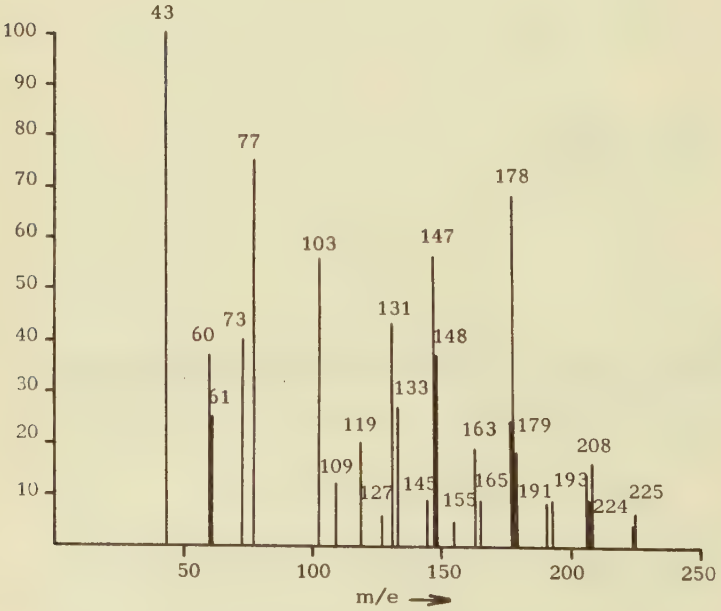


Abb. 22: Massenspektrum der Verbindung DP-D3

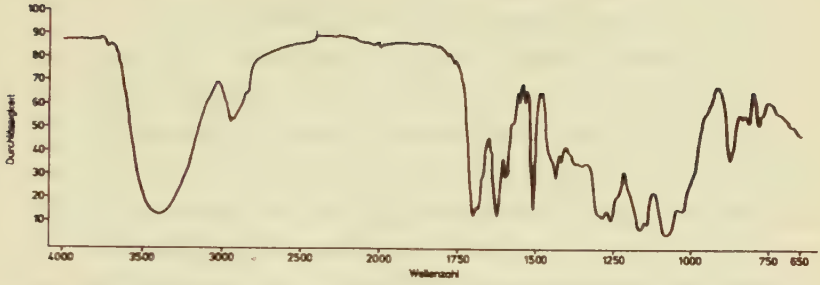


Abb. 23: IR-Spektrum der Verbindung DP-D3 (KBr-Preßling)

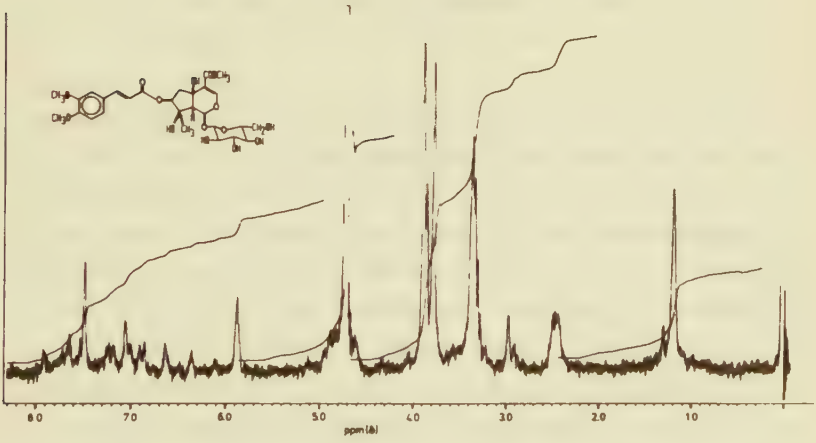


Abb. 24: NMR-Spektrum der Verbindung DP-D3 (Lösungsmittel CD_3OD)

weiter ersichtlich ist, findet man, wie beim Lamiid, im Bereich von 3 ppm (Methinprotonen) je ein Dublett (J = 1 Hz), das offenbar durch ein Proton am C(9) hervorgerufen wird. Signale mit der gleichen Kopplungskonstante finden sich in allen drei Spektren bei ca 5,9 ppm. Diese Signale werden von den Protonen am C(1) verursacht. Iridoide vergleichbarer Teilstruktur geben Signale mit ähnlicher chemischer Verschiebung und Kopplungskonstante (80).

In den IR-Spektren aller drei Verbindungen finden sich typische Absorptionsbanden aromatischer Verbindungen, so bei 1600 cm^{-1}, 1500 cm^{-1} und im figerprint Bereich unterhalb von 900 cm^{-1} out of plane-Schwingungen.

Die UV-Spektren bestätigen den aromatischen Charakter. Sie weisen zusätzlich zu den bereits beschriebenen Maxima, die durch die Enol-Äther Gruppierung hervorgerufen werden, folgende weitere Absorptionsmaxima auf:

DP-D1	282 nm ($\log\varepsilon$ 4,29)
DP-D2	310 nm ($\log\varepsilon$ 4,30), 189 nm ($\log\varepsilon$ 4,28)
DP-D3	311 nm ($\log\varepsilon$ 4,16), 191 nm ($\log\varepsilon$ 4,34)

Für aromatische Verbindungen sind die gefundenen Wellenlängen und Intensitäten relativ hoch. Eine Schwingungsfeinstruktur ist nicht zu beobachten, so daß es sich um stark erweiterte Chromophore handeln muß. Die Aromaten sollten daher mit Substituenten in Konjugation stehen. In den NMR-Spektren findet man in dem Bereich für aromatische Protonen je ein Multiplett, dessen Integration für DP-D1 5 H, für DP-D2 4 H und für DP-D3 3 H ergibt. Weiterhin sind bei jeder der drei Verbindungen je zwei Dubletts im Bereich von etwa 6,5 und 7,8 ppm zu finden, die jeweils die gleichen Kopplungskonstanten (J = 16 Hz) aufweisen. Bei der Abschätzung der chemischen Verschiebung für Protonen an einer Doppelbindung, die mit weiteren Substituenten in Konjugation stehen, gelangt man zu ähnlichen Werten. Die Kopplungskonstanten sprechen für trans ständige Protonen.

Wie bereits erwähnt, hat man in der Familie der Verbenaceae u.a. eine größere Anzahl von phenolischen Verbindungen, so auch Zimtsäuren, nachgewiesen. Unter Beachtung der oben dargelegten spektroskopischen Daten war daher zu vermuten, daß es sich hier um Iridoide handelt, die noch zusätzlich mit Zimtsäurederivaten substituiert sind. In den NMR-Spektren von DP-D2 und DP-D3 findet man weiterhin für DP-D2 ein Singulett bei 3,85 ppm und für DP-D3 zwei Singuletts bei 3,84 und 3,88 ppm. Die Integration entspricht bei jedem Signal drei Protonen. Methylester (Tab. 7), aber auch Methyläther, speziell aromatische Methyläther, geben Signale in diesem Bereich. Aufgrund dieser Daten kann für DP-D2 die Teilstruktur eines Monomethyläthers und für DP-D3 die eines Dimethyläthers angenommen werden. Die Massenspektren bestätigen diese Annahme. Vergleicht man die Spektren der vorliegenden Verbindungen mit demjenigen von Lamiid, so findet man im tieferen Massenbereich einige Bruchstücke starker Intensität, die z.T. in allen drei Spektren nachzuweisen sind, jedoch beim Lamiid fehlen. Danach scheint die Abspaltung von CO, COOH und OCH_2 eine bevorzugte Reaktion zu sein, so daß das in Abb. 25 gezeigte Schema aufgestellt werden kann. Die Abspaltung von CO ist eine Reaktion, die allgemein bei aromatisch gebundenem O beobachtet wird. Sie ist bei aromatischen Methyläthern nach der Abspaltung von Methylradikalen die am häufigsten beobachtete Reaktion. Oft ist auch die Abspaltung von CH_2O dominierend. Diese Reaktion wird nun bei DP-D2 und DP-D3 beobachtet. Bei DP-D3 erfolgt diese Abspaltung wiederum doppelt so häufig wie bei DP-D2. Damit wird die zuvor getroffene Zuordnung der betreffenden NMR-Signale dieser Verbindungen, als Methyläthersignale, bestätigt. Eine bevorzugte Abspaltung von CO erfolgt hier jedoch offenbar nicht aus einer Methoxygruppe, sondern aus einer Carboxylgruppe. Dafür sprechen die intensiven M^+-17 Fragmente und die darauf folgende CO Elimination. Diese Reaktion entspricht der Alkoxyspaltung bei Estern. In Abb. 26 ist als Beispiel der Zerfall von p-Methoxyzimtsäure angegeben.

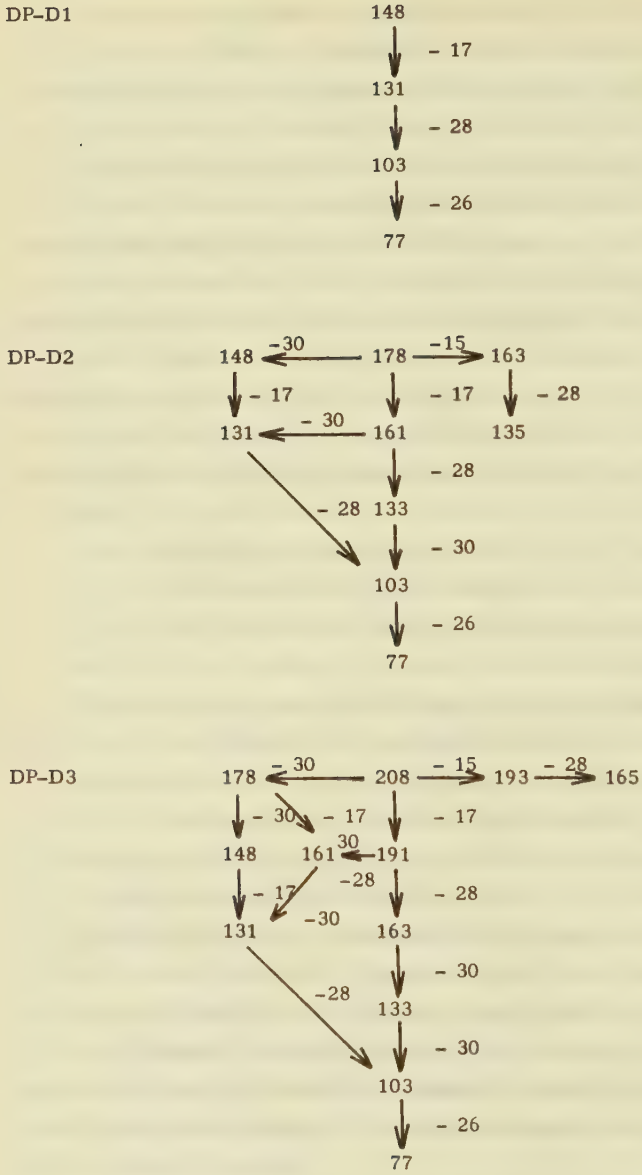


Abb. 25: Zerfallsschema der an die Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 gebundenen Zimtsäuren

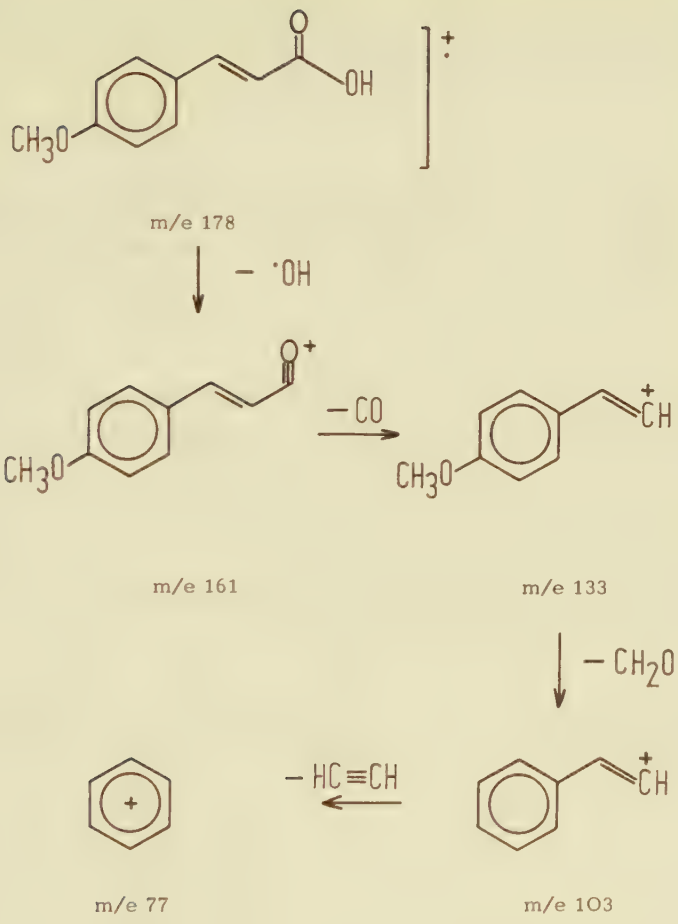
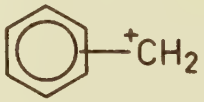


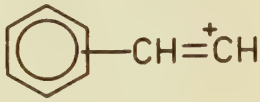
Abb. 26: Massenspektrum von p-Methoxyzimtsäure. Wichtige Fragmentierungswege.

Im Hinblick auf die Anwesenheit aromatischer Strukturen bzw. Zimtsäuren, können die Bruchstücke der Massenzahlen 77, 91 und 103 mit den Strukturen 8, 9 und 10 interpretiert werden.

8



9



10

Unspezifischer ist dagegen die Abspaltung von COOH. Sie wird u.a. bei Säuren und einigen Estern beobachtet. Es war anzunehmen, daß die hier untersuchten Iridoide, aus den oben dargelegten Gründen einerseits und der Tatsache, daß keine weiteren funktionellen Gruppen nachgewiesen wurden andererseits, an die Zimtsäuren in der Form von Estern gebunden sind. Um nun die Zimtsäuren freisetzen zu können,wurden die Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 hydrolysiert.

Verbindung	C(1)1H	C(3)1H	C(6)2H	C(9)1H	C(10)3H	C(11)-OCH_3
Lamiid	5,82 s^+ J = 1 Hz	7,42 s	2,23-3,63 m	2,82 s^+ J = 1 Hz	1,10 s	3,74 s
DP-D1	5,93 s^+ J 1 Hz	7,56 s	2,30-2,62 m	3,03 s^+ J 1 Hz	1,20 s	3,82 s
DP-D2	5,87 s^+ J 1 Hz	7,48 s	2,33-2,60 m	2,98 s^+ J 1 Hz	1,18 s	3,76 s
DP-D3	5,86 s^+ J 1 Hz	7,48 s	2,33-2,58 m	2,97 s^+ J 1 Hz	1,18 s	3,76 s

Lösungsmittel: CD_3OD, 60 MHZ, TMS = 0, s^+ = breites Singulett

Tab. 7: NMR-Daten von Lamiid, DP-D1, DP-D2 und DP-D3

Alkalische Hydrolyse der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3

Wie im experimentellen Teil näher beschrieben, wurden die Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 der alkalischen Hydrolyse unterzogen. Die glykosidische Bindung blieb dabei erhalten. Es war jedoch zu berücksichtigen, daß die Methylester am C(11) ebenfalls gespalten werden und so die entsprechenden Iridoidsäuren entstehen müssen.
Die alkalische Hydrolyse der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 lieferte je eine Iridoidsäure. Die Iridoidsäuren fielen als farblose, amorphe Substanzen an und zeigten bei der dc-Prüfung keine Unterschiede. Die von den betreffenden Verbindungen abgetrennten Zimtsäuren wurden kristallisiert und mit einer größeren Anzahl authentischer Zimtsäurederivaten verglichen. Die Prüfung ergab die in Tab. 8 zusammengefaßten Ergebnisse.

Ausgangsverbindung	Zimtsäure (Arbeitsbezeichnung)	dc-identisch mit
DP-D1	DP-DS1	Zimtsäure
DP-D2	DP-DS2	p-Methoxyzimtsäure
DP-D3	DP-DS3	3,4-Dimethoxy-Zimtsäure

Tab. 8: dc-Prüfung der Zimtsäuren

Identifizierung der Zimtsäuren DP-DS1, DP-DS2 und DP-DS3

Aufgrund der in Tab. 8 dargelegten dc-Ergebnisse wurden von den abgetrennten Zimtsäuren und den entsprechenden authentischen Säuren die Mischschmelzpunkte ermittelt. Sie zeigten keine Depression. Ein Vergleich der entsprechenden IR-Spektren zeigte Übereinstimmung in allen Einzelheiten.
Damit war die Identität von DP-DS1 mit Zimtsäure, von DP-DS2 mit p-Methoxyzimtsäure und von DP-DS3 mit 3,4-Dimethoxyzimtsäure erwiesen.

Spektroskopische Untersuchung der Iridoidsäuren

Beim dc-analytischen Vergleich ließen sich keinerlei Unterschiede zwischen den drei Iridoidsäuren DP-DH1, DP-DH2 und DP-DH3 feststellen. Die IR-Spektren sowie die Massenspektren dieser Verbindungen waren identisch. Einige wichtige Fragmentierungswege sind in Abb. 27 gezeigt. Alle Fragmente, die für den Zerfall von Glucose typisch sind, waren nachweisbar. Für die weiteren Untersuchungen wurden die Iridoidsäuren vereinigt (insgesamt 184 mg DP-DH). Davon wurde das NMR-Spektrum angefertigt (Abb. 28). Die Gegenüberstellung der NMR-Daten mit denjenigen von Lamiid läßt eine weitgehende Ähnlichkeit erkennen (Tab. 9).

Wie zu erwarten, fehlt bei DP-DH ein Signal im Bereich von 3,7-3,9 ppm (s.a. Tab. 7), das dem Methylester am C(11) zuzuordnen wäre. Die chemischen Verschiebungen der übrigen Signale sind mit denjenigen von Lamiid weitgehend identisch. Während die Integration der Protonen im Bereich von 3,3-4,1 ppm beim Lamiid 11 H ergibt, ermittelt man für DP-DH nur 8 H.

Die bisherigen Ergebnisse der Spektrendiskussion und die Ergebnisse der Hydrolyse lassen folgende Schlüsse zu:

1. Die Verbindung DP-D1 ist mit Zimtsäure, DP-D2 mit p-Methoxyzimtsäure und DP-D3 mit 3,4-Dimethoxyzimtsäure verestert.
2. Die durch alkalische Hydrolyse entstandenen Iridoidsäuren sind in allen drei Fällen identisch.
3. Bei den abgetrennten Iridoidsäuren sollte es sich in allen drei Fällen um Lamiidsäure handeln. Wenn diese Aussage richtig ist, muß sich Lamiidsäure durch Methylierung in Lamiid überführen lassen.

Verbindung	C(10)3H	C(6)2H	C(9)1H		C(1)1H	C(3)1H	C(11)-OCH_3
Lamiid	1,18 s	2,36-2,55 m	2,88 s^+	3,30-4,10 m	5,96 s^+	7,6 s	3,87
DP-DH	1,18 s	2,20-2,40 m	2,73 s	3,25-4,05 m	5,78 s	7,2 s	-

in D_2O, TMS = 0

Tab. 9: NMR-Daten von Lamiid und DP-DH

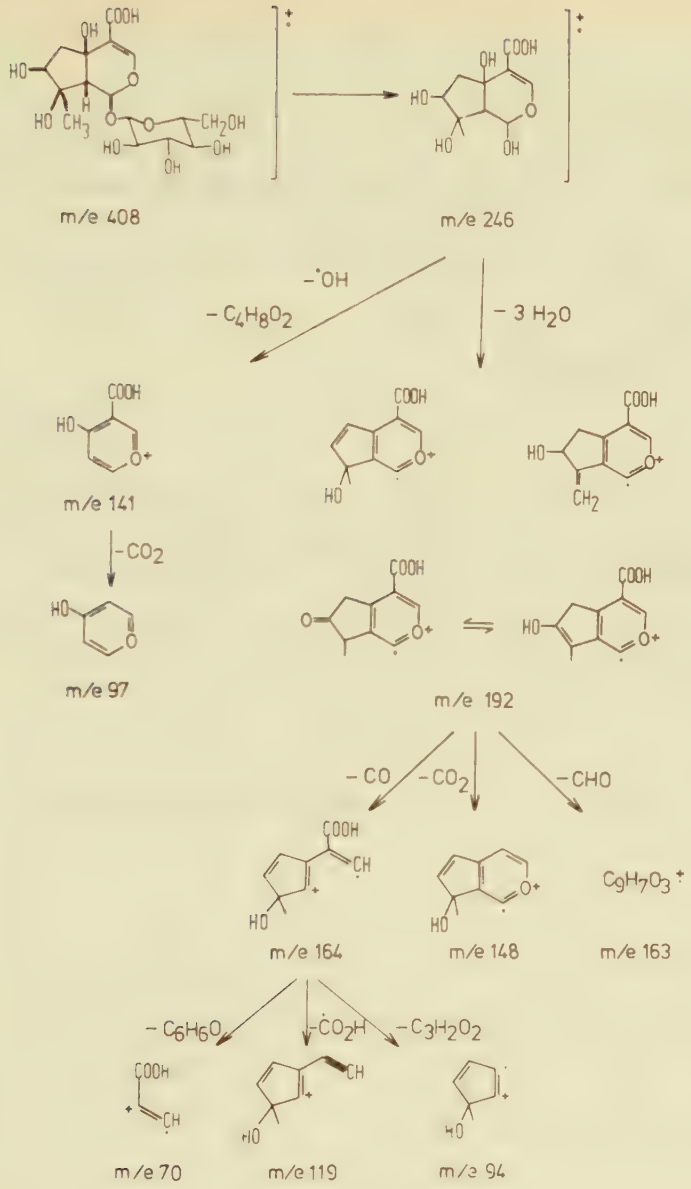


Abb. 27: Massenspektrum der Iridoidsäuren. Wichtige Fragmentierungswege. Molekülion nicht nachweisbar.

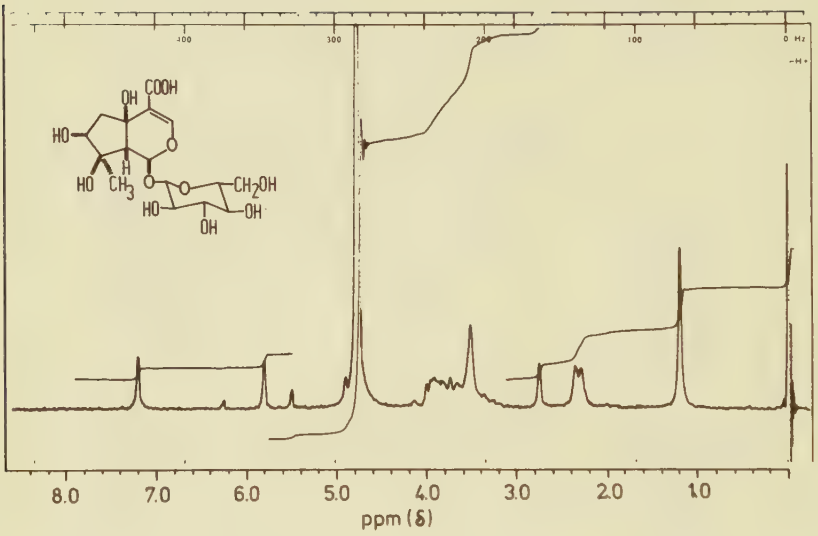


Abb. 28: NMR-Spektrum der Verbindung DP-DH (Lösungsmittel D_2O)

Methylierung der Verbindung DP-DH

Die vereinigten Iridoidsäuren wurden mit Diazomethan methyliert. Es ergaben sich zwei Verbindungen, die aufgrund der dc-Prüfung als Lamiid (Arbeitsbezeichnung DP-DHM) und als Ausgangsverbindung, also Lamiidsäure, identifiziert werden konnten (s. exp. Teil). Mit Hilfe der präparativen Säulenchromatographie wurden beide Verbindungen getrennt.

Identifizierung der Verbindung DP-DHM als Lamiid

Von der Verbindung DP-DHM wurde das IR-, NMR und das Massenspektrum angefertigt. Das IR-Spektrum stimmte mit dem Spektrum des authentischen Lamiid in allen Einzelheiten überein. Die NMR-Spektren waren identisch. Die Massenspektren zeigten die gleichen Fragmente. Damit war die Identität von DP-DHM mit Lamiid erwiesen. Bei den Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 handelt es sich also um Ester des Lamiids. Um nähere Angaben, so insbesondere über die Stellung der Acylgruppen im Molekül, zu erhalten, wurden die Acetate nach der üblichen Methode hergestellt.

Spektroskopische Untersuchung der Acetate und Identifizierung der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3

Bei der Acetylierung der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 waren in jedem Fall zwei Acetate entstanden, die säulenchromatographisch getrennt wurden. Von den Acetaten wurden jeweils das IR-, NMR- und Massenspektrum angefertigt. Aus den NMR-Spektren der Verbindungen DP-D1 Ac I, DP-D2 Ac I und DP-D3 Ac I geht hervor (Abb. 29-31), daß es sich um Tetraacetate handelt. Aus den Elementaranalysen der Tetraacetate lassen sich die folgenden Summenformeln ableiten:

DP-D1 Ac I	$C_{34}H_{40}O_{17}$	Ber.: C 56,66 H 5,59
		Gef.: C 56,40 H 5,87
DP-D2 Ac I	$C_{35}H_{42}O_{18}$	Ber.: C 55,60 H 5,64
		Gef.: C 56,13 H 5,93
DP-D3 Ac I	$C_{36}H_{44}O_{19}$	Ber.: C 55,38 H 5,68
		Gef.: C 54,12 H 5,96

Wie die NMR- und Massenspektren der Verbindungen DP-D1 Ac II, DP-D2 Ac II und DP-D3 Ac II, die bei der Acetylierung als Nebenprodukt anfallen (von DP-D2 Ac II konnte aus Substanzmangel kein NMR-Spektrum angefertigt werden), zeigen, handelt es sich dabei um Pentaacetate. Aufgrund der Elementaranalyse der Tetraacetate und der Tatsache, daß jeweils eine Hydroxygruppe des Lamiids mit der betreffenden Zimtsäure verestert ist, muß bei den Pentaacetaten noch eine freie Hydroxygruppe vorhanden sein. Die IR-Spektren der Pentaacetate bestätigen diese Annahme. Dabei kann es sich nur um tertiär gebundene Hydroxygruppen handeln. Diese sollten wie beim Lamiid am C-Atom 5 lokalisiert sein.

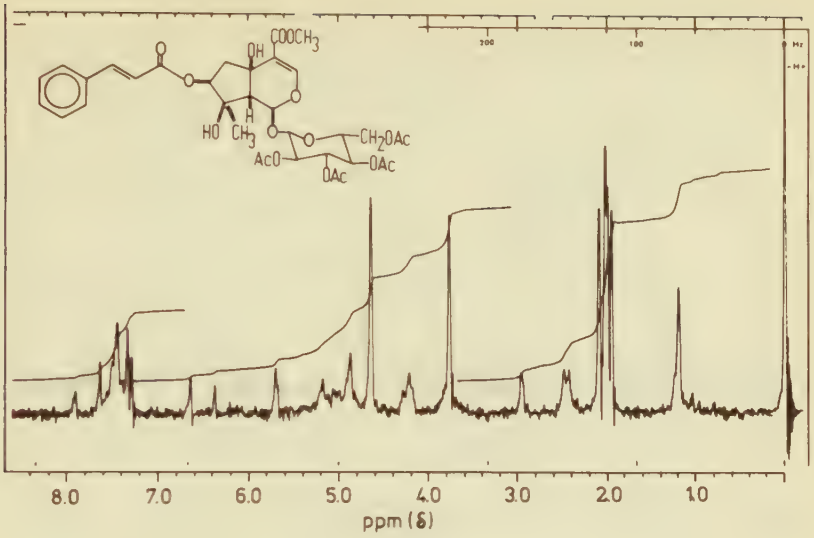


Abb. 29: NMR-Spektrum der Verbindung DP-D1 Ac I (Lösungsmittel $CDCl_3$)

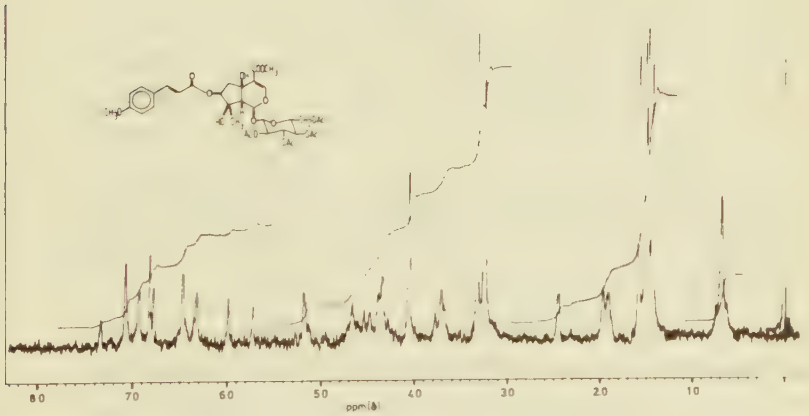


Abb. 30: NMR-Spektrum der Verbindung DP-D2 Ac I (Lösungsmittel $CDCl_3$)

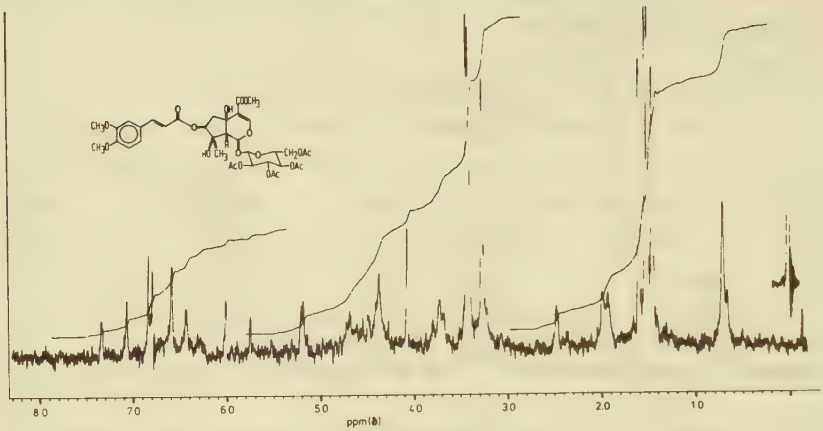


Abb. 31: NMR-Spektrum der Verbindung DP-D3 Ac I (in $CDCl_3$)

Die betreffenden Zimtsäuren können entweder an die Aglyka oder an die Glukose gebunden sein. Hierüber sollten die Massenspektren der Acetate Aufschluß geben (Abb. 32). Die Massenspektren zeigen,wie bei den Lamiidacetaten, ein Fragment der Massenzahl 331, das den acetylierten Zuckeranteil enthält und in charakteristischer Weise weiter zerfällt (84). Die das Aglykon enthaltenen Bruchstücke haben dagegen bei DP-D1 um 130 Einheiten, bei DP-D2 um 160 Einheiten und bei DP-D3 um 190 Einheiten höhere Massenzahlen, als bei Lamiid. Diese Massendifferenzen entsprechen den um 18 Einheiten verminderten Molekulargewichten der betreffenden Zimtsäuren. Daraus ist zu folgern, daß die Cinnamoylreste an die Aglyka gebunden sind und die vier Acetylgruppen der Tetraacetate mit den Glucosylresten verknüpft sind. Aus der Tatsache, daß bei der Acetylierung als Hauptprodukte die Tetraacetate und als Nebenprodukt die Pentaacetate entstehen, ist bereits indirekt zu schließen, daß die

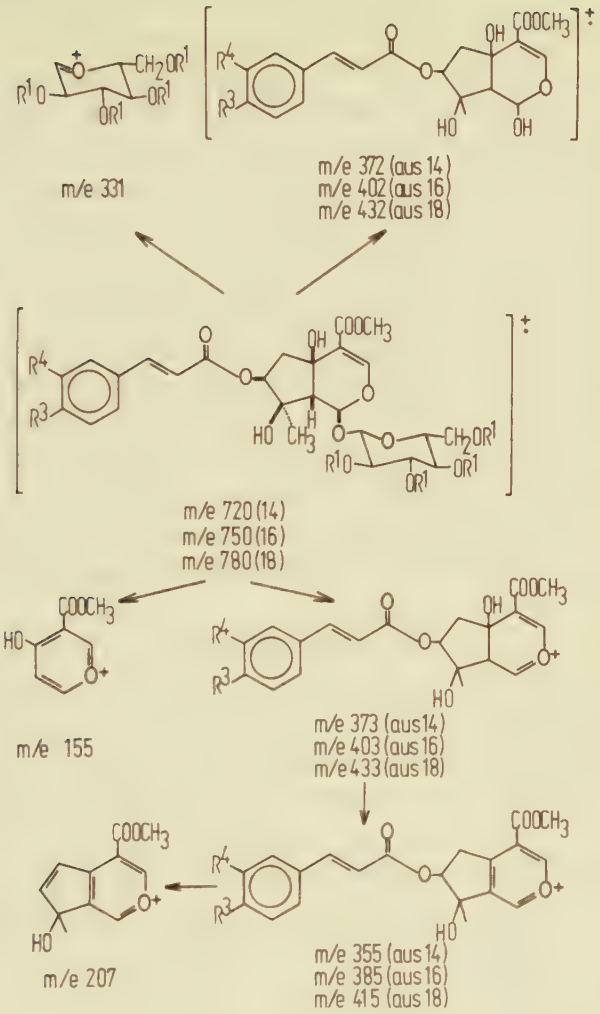


Abb. 32: Massenspektren: Zerfall der Tetraacetate von DP-D1, DP-D2 und DP-D3

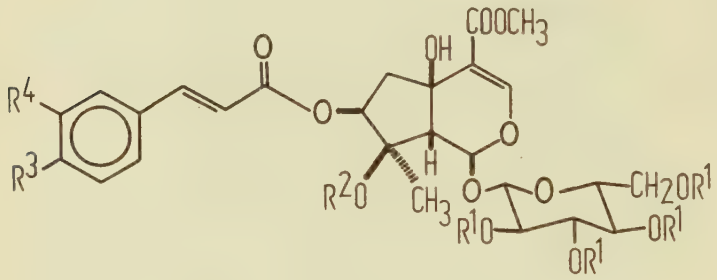
betreffenden Zimtsäuren am sekundär gebundenen C(7) lokalisiert sind. Die Aglyka der Tetraacetate enthalten dann noch zwei freie Hydroxy - gruppen. Diese sollten demnach an die C-Atome 5 und 8 gebunden sein, da sekundäre Hydroxygruppen bei den gewählten Reaktionsbedingungen leicht acetylierbar sind. Die freien Hydroxygruppen am C(8) sind darüber hinaus durch die chemische Verschiebung der C(10) CH_3-Signale der Pentaacetate bewiesen. Diese sind gegenüber den betreffenden Signalen der Tetraacetate um etwa 0,2 ppm nach tieferem Feld verschoben (Tab. 10). Außerdem sind die freien Hydroxygruppen durch die chemische Verschiebung der C(10) H_3-Signale der nicht acetylierten Verbindungen bewiesen. Die freien Hydroxygruppen am C(5) können in allen Massenspektren der vorliegenden Verbindungen, sowohl der nicht acetylierten,als auch der acetylierten, durch die Bruchstücke der Massenzahl 155 nachgewiesen werden. Diese Bruchstücke entstehen durch Elimination der drei Kohlenstoffatome des Fünfringes und werden begleitet durch den Verlust eines Zucker- oder OH-Radikales. Außerdem geben alle Signale der Protonen am C(3) ein scharfes Singulett.

Wenn die Zimtsäuren an die Hydroxygruppen der C(7) Atome gebunden sind, so ist zu erwarten, daß das Proton am C(7) in den betreffenden Spektren gegenüber dem entsprechenden Signal beim Lamiid um etwa 1 ppm nach tieferem Feld verschoben ist. Dieses Signal ist sowohl beim Lamiid als auch bei den vorliegenden Verbindungen von anderen Signalen überlagert. Es ist jedoch durch Integration nachweisbar. Bei den Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 ist dieses Signal, wie es bei der Acetylierung einer sekundären Hydroxygruppe zu erwarten ist, nach tieferem Feld verschoben. Außerdem sind die Signale für die Protonen am C(6) gegenüber dem Lamiid um etwa 0,1 ppm nach tieferem Feld verschoben. Diese Verschiebung ist ebenfalls bei den Lamiidacetaten zu beobachten; sie ist demnach offenbar ebenfalls auf die Acylgruppe am C(7) zurückzuführen.

		Lösungsmittel	C(1) H	C(3) H	C(6) 2 H	C(7) H	C(9) H	C(10) 3 H
5	DP-A	CD_3OD	5,82 s^+	7,42 s	2,23-2,42 m	3,43-3,63	2,80 s^+	1,10 s
6	DP-A Ac I	$CDCl_3$	5,78 s^+	7,40 s	2,42-2,53 m	4,60-5,45	2,88 s^+	1,15 s
7	DP-A Ac II	$CDCl_3$	5,78 s^+	7,42 s	2,45-2,56 m	4,60-5,45	3,15 s^+	1,36 s
11	DP-D1	CD_3OD	5,93 s^+	7,60 s	2,30-2,62 m	4,62-5,03	3,00 s^+	1,20 s
14	DP-D1 Ac I	$CDCl_3$	5,72 s^+	7,45 s	2,33-2,57 m	4,73-5,50	2,95 s^+	1,20 s
15	DP-D1 Ac II	$CDCl_3$	5,86 s^+	7,45 s	2,38-2,62 m	4,73-5,50	3,23 s^+	1,42 s
12	DP-D2	CD_3OD	5,87 s^+	7,48 s	2,33-2,60 m	4,53-5,00	2,98 s^+	1,18 s
16	DP-D2 Ac I	$CDCl_3$	5,79 s^+	7,42 s	2,33-2,53 m	4,56-5,50	2,96 s^+	1,18 s
13	DP-D3	CD_3OD	5,86 s^+	7,48 s	2,33-2,58 m	4,55-4,97	2,97 s^+	1,18 s
18	DP-D3 Ac I	$CDCl_3$	5,71 s^+	7,34 s	2,35-2,57 m	4,67-5,35	2,98 s^+	1,20 s
19	DP-D3 Ac II	$CDCl_3$	5,73 s^+	7,46 s	2,35-2,60 m	4,65-5,50	3,25 s^+	1,38 s

Tab. 10: NMR-Daten von DP-A, DP-A Ac I, DP-A Ac II, DP-D1, DP-D1 Ac I, DP-D1 Ac II, DP-D2, DP-D2 Ac I, DP-D3, DP-D3 Ac I, DP-D3 Ac II (60 MHZ, TMS = 0)

Aufgrund der dargelegten Ergebnisse wurde für DP-D1 die Struktur 11, für DP-D2 die Struktur 12 und für DP-D3 die Struktur 13 ermittelt. Nach unserem Wissen sind diese Verbindungen bisher nicht beschrieben worden. Sie wurden mit den Namen Durantosid I für DP-D1, mit Durantosid II für DP-D2 und mit Durantosid III für DP-D3 belegt.



11	Durantosid I	$R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$
12	Durantosid II	$R^1 = R^2 = R^4 = H$, $R^3 = -OCH_3$
13	Durantosid III	$R^1 = R^2 = H$, $R^3 = R^4 = -OCH_3$
14	Durantosid I-tetraacetat	$R^1 = -COCH_3$, $R^2 = R^3 = R^4 = H$
15	Durantosid I-pentaacetat	$R^1 = R^2 = -COCH_3$, $R^3 = R^4 = H$
16	Durantosid II-tetraacetat	$R^1 = -COCH_3$, $R^2 = R^4 = H$, $R^3 = -OCH_3$
17	Durantosid II-pentaacetat	$R^1 = R^2 = -COCH_3$, $R^4 = H$, $R^3 = -OCH_3$
18	Durantosid III-tetraacetat	$R^1 = -COCH_3$, $R^2 = H$, $R^3 = R^4 = -OCH_3$
19	Durantosid III-pentaacetat	$R^1 = R^2 = -COCH_3$, $R^3 = R^4 = -OCH_3$

Aus den spektroskopischen Daten der Durantoside geht hervor, daß alle drei Verbindungen noch mit geringen Mengen von Isomeren verunreinigt sind, bei denen die Zimtsäuren an die Glucosylreste gebunden sind. So zeigen die Massenspektren u.a. Fragmente, die sich nur als acylierte Zuckerbruchstücke deuten lassen (Durantosid I: m/e 293, Durantosid II: m/e 323 und Durantosid III: m/e 353). Auch die NMR-Spektren zeigen schwache Signale bei 2,12-2,35 ppm (C(6)-2H) und 3,42-3,7 ppm (C(7) H). Außerdem weisen die Massenspektren der Lamiidsäuren noch die durch den Zerfall der Zimtsäuren entstehenden Fragmente auf. Diese Bruchstücke besitzen eine hohe Stabilität und sind so auch noch bei geringerem Gehalt nachweisbar. Die kristalli nen Tetra- und Pentaacetate der Durantoside sind dagegen einheitlich.

IV EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Angaben

Zur Untersuchung gelangte die Gesamtdroge (oberirdische und unterirdische Teile) von Duranta repens L.. Das Pflanzenmaterial wurde zur Blütezeit in der Nähe von Calcutta gesammelt und luftgetrocknet. Ein Belegexemplar befindet sich im Herbarium am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin.

Für die Dünnschichtchromatographie wurden Alu-DC Fertigplatten Kieselgel F_{254} Merck verwendet, die eine gute Reproduzierbarkeit der Rf-Werte gewährleisten. Zur Säulenchromatographie wurde Kieselgel Woelm 0,063-0,2 mm, Aluminiumoxid neutral Woelm, Celite 545 und Sephadex G10 und G15 Pharmacia Fine Chemicals verwendet. Zur Detektion wurde Vanillin Schwefelsäure konz. (1 %) benutzt. Konzentrations- und Verhältnisangaben bei Lauf- und Elutionsmitteln beziehen sich auf Volumina (v/v). Nach dem Ansprühen wurden die Platten kurzzeitig im Trockenschrank bei 100° erhitzt. Die beste Farbausbildung zeigte sich nach etwa zwei Minuten.

Die Gegenstromverteilung wurde mit der Steady State Machine Model 20 (Quickfit) durchgeführt. Dabei betrug die Raumtemperatur 20°.

Die UV-Absorptionsspektren wurden mit einem Zeiss PM Q II Spektralphotometer aufgenommen. Die Lösungen befanden sich in Quarzküvetten von 1,000 cm Schichtdicke. Als Lösungsmittel wurde Wasser verwendet. Im Bereich unter 210 nm wurde mit Stickstoffspülung gearbeitet.

Die IR-Spektren wurden mit einem Unicam SP 200 G Spektrophotometer aufgenommen. Zur Messung gelangten KBr-Preßlinge mit einer durchschnittlichen Konzentration von 1,2/150 mg.

Die Kernresonanzspektren wurden mit dem Varian S 60 Spektrometer aufgenommen[+)]. Lösungsmittel: CD_3OD, $CDCl_3$, D_2O. TMS als innerer Standart.

Die Massenspektren wurden mit einem Massenspektrographen Atlas CH_4 aufgenommen[+)]. Iridoid Glykoside wurden bei 200° und die Acetate bei 180° in der Ionenquelle verdampft.

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler Heiztisch-Mikroskop bestimmt.

Die Mikroanalysen wurden bei der Schering AG Berlin durchgeführt[+)].

[+)] Ich danke Herrn Prof. Dr. Ch. Leuckert, Institut für Pflanzensystematik, sowie Herrn R. Rosenow, Herrn G. Grelbig und Herrn J. Lindemann, Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin für die Aufnahme der Massen- und Kernresonanzspektren. Für die Durchführung der Elementaranalysen danke ich Herrn Dr. B. Angermann, Firma Schering AG Berlin.

Isolierung der Iridoidglykoside DP-A, DP-D1, DP-D2 und DP-D3

750 g des getrockneten und mittelfein gepulverten Pflanzenmaterials wurden einmal mit 3 l reinem Äthanol und zweimal mit je 2 l 80-proz. Äthanol je 30 Minuten lang unter Rückfluß gekocht. Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum bei 40° auf 150 ml eingeengt, mit Celite verrieben und im Vakuum getrocknet. Dieser an etwa 250 g Celite gebundene Extrakt wurde auf eine Celite-Säule (50 g Celite) gegeben und mit Hexan/Methylenchlorid 1:1 eluiert, bis der Durchlauf nur noch schwach grün gefärbt war (ca. 3 l). Diese Fraktion wurde verworfen. Anschließend wurde mit 4 l Methylenchlorid/Methanol 1:1 eluiert. Der nach dem Einengen verbliebene Rückstand dieses Eluates wurde in wenig Methanol aufgenommen, mit Celite verrieben, im Vakuum getrocknet und dann auf eine Aluminiumoxidsäule (500 g Al_2O_3) gegeben. Elution mit 4 l Wasser ergab nach dem Einengen etwa 61 g eines braunen, zähflüssigen Rückstandes, der an Celite gebunden und nach dem Trocknen auf drei Kieselgelsäulen (je 600 g Kieselgel) gegeben wurde. Durch Gradientenelution mit Methylenchlorid/Methanol/Wasser (Anfangskonzentration 90:10:1, Endkonzentration 70:30:3) ergaben sich zwei iridoidhaltige Fraktionen A und D. Die Fraktionen B und C wurden nicht weiter untersucht (Tab. 3 und 4).
Die hydrophilere Fraktion A war dc-einheitlich und lieferte nach Chromatographie an Sephadex mit Wasser als Elutionsmittel 1,95 g (0,26 %) der Verbindung DP-A, die als Lamiid identifiziert wurde. Die lipophilere Fraktion D (insgesamt 1,38 g = 0,18 %) enthielt drei Verbindungen, die sich sehr ähnlich verhalten (Tab. 6). Durch Verteilungschromatographie an Kieselgelsäulen mit Toluol/Butanol/Wasser 1:1:2 (Oberphase) wurde die Verbindung DP-D3 abgetrennt. Nach anschließender Chromatographie an Sephadex mit Wasser ergaben sich 230 mg (0,03 %) DP-D3 (Durantosid III).

Die beiden Verbindungen DP-D2 und DP-D1 wurden durch Gegenstromverteilung in Chloroform/Äthanol/Wasser 4:1:4 getrennt. Das Volumenverhältnis der Phasen betrug bei 20° 1,25. Die Elemente wurden nach jedem Verteilungsschritt 50 mal innerhalb von 5 Minuten geschüttelt. Die Phasentrennzeit betrug 90 Minuten. Das Ergebnis der Gegenstromverteilung wurde dünnschichtchromatographisch geprüft. Das Programm der Phasentransporte wurde wie folgt gewählt:

4 mal Unterphase 1 mal Oberphase bis 110 Verteilungsschritte
4 mal Unterphase 2 mal Oberphase bis 220 Verteilungsschritte und
4 mal Unterphase 1 mal Oberphase bis 330 Verteilungsschritte.

Danach enthielten die Elemente 302-314 dc-einheitliches DP-D1 (Durantosid I) und die Elemente 267-273 dc-einheitliches DP-D2 (Durantosid II). In den Elementen 273-302 waren noch beide Verbindungen nachweisbar. Nach Chromatographie über Sephadex mit Wasser ergaben sich 530 mg (0,07 %) DP-D1 und 315 mg (0,04 %) DP-D2.

Eigenschaften der Verbindung DP-A (Lamiid)

Zusammensetzung: $C_{17}H_{26}O_{12}$
M = 422 (massenspektrometrisch)
Farblose amorphe Substanz

UV (H_2O):
λ max 230 (ε = 10147) nm

IR:
3500-3200 s, 2930 m, 1700 s, 1630 s, 1440 m, 1380 m, 1300 s, 1230 m, 1190 m, 880 m, 860 m, 815 w, 785 w, 1150-1000 s cm^{-1}.

NMR (CD_3OD):
7,42 s (1H), 5,82 s^+ (1 H), 3,74 s (3H), 3,43-3,63 m (1 H), 2,8 s^+ (1 H), 2,23-2,42 m (2H), 1,10 s (1H) ppm.

MS: m/e (% Basispeak)
243 (2,6), 242 (1,8), 225 (16,2), 224 (8,3), 207 (25), 206 (94), 191 (11,6), 190 (12,7), 189 (13,8), 181 (16,3), 178 (26,3), 177 (43), 175 (23), 163 (38,8), 155 (61), 149 (21), 148 (16,6), 147 (13,8), 145 (27,5), 135 (13,8), 131 (13,3), 127 (5,5), 120 (22,2), 119 (17,5), 109 (6,4), 103 (18), 94 (7,6), 91 (30,5), 89 (16,5), 87 (16,5), 85 (16,5), 84 (7,1), 73 (100), 61 (8,5), 60 (55,5), 43 (39), 42 (86).

Der Vergleich des IR-Spektrums von DP-A mit den Spektren des authentischen Lamiid ergab Übereinstimmung in allen Einzelheiten (Abb. 11). Die NMR- und UV-Spektren waren identisch. In den Massenspektren wurden die gleichen Bruchstücke beobachtet.

Acetylierung der Verbindung DP-A

200 mg DP-A wurden in 10 ml Pyridin gelöst und mit 10 ml Acetanhydrid 24 Stunden lang bei Raumtemperatur acetyliert. Danach wurde das Gemisch auf Eis gegossen. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert. Die Mutterlauge wurde mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Phase wurde nacheinander mit 0,1 N HCl, gesättigter $NaHCO_3$-Lösung und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wurde mit dem abgetrennten Niederschlag vereinigt und durch Säulenchromatographie an 50,0 Kieselgel mit Toluol/Aceton 8:2 aufgetrennt (Tab. 11). Nach Kristallisation aus Äthanol-Wasser ergaben sich 116 mg DP-A Ac I (Lamiidpentaacetat) und 38 mg DP-A Ac II (Lamiidhexaacetat). Von den Acetaten der Verbindung DP-A und von den Acetaten des authentischen Lamiid wurden die Mischschmelzpunkte ermittelt.

Verbindung	Rf-Werte	Schmelzpunkt	Ausbeute in %	Mischschmelzpunkt
DP-D Ac I	0,15	189-191	58	186-190
Lamiidpentaacetat authentisch	0,15	186-188	-	
DP-DA Ac II	0,29	204-206	19	203-207
Lamiidhexaacetat authentisch	0,29	204-206	-	

Tab. 11: Eigenschaften der Acetate der Verbindung DP-A und Vergleich mit den Acetaten des authentischen Lamiids

Eigenschaften der Verbindung DP-A Ac I (Lamiidpentaacetat)

Zusammensetzung: $C_{27}H_{36}O_{17}$
M = 632 (massenspektrometrisch)
Schmelzpunkt: 189-191°

IR:
3520 s, 2950 m, 2920 m, 2840 w, 1750 s, 1630 s, 1435 m, 1380 s, 1240 s, 1150 m, 1130 m, 1080 s, 1010 m, 980 m, 930 w, 830 m, 820 w, 790 w, 770 w cm^{-1}.

NMR: ($CDCl_3$)
7,32 s (1H), 5,78 s^+ (1H), 4,60-5,45 m (5H), 4,35-4,15 m (2H), 3,75 s (3H), 3,58-3,96 (1H), 2,88 s^+ (1H), 2,30-2,48 m (2H), 1,80-2,30 m (15 H), 1,15 s (3H) ppm.

MS m/e (% Basispeak):
354 (0,17), 331 (20), 271 (9,4), 267 (4,8), 229 (4), 224 (8,2), 211 (9,1), 207 (34), 181 (5,1), 175 (6,5), 169 (86), 168 (11,4), 155 (14,2), 145 (12), 139 (12,5), 127 (21), 115 (19,4), 109 (48), 103 (12), 97 (14), 81 (14), 43 (100).

Der Vergleich des IR-Spektrums der Verbindung DP-A Ac I mit dem Spektrum des authentischen Lamiidpentaacetats zeigte Übereinstimmung in allen Einzelheiten. Die Mischschmelzpunkte zeigten keine Depression.

Eigenschaften der Verbindung DP-A Ac II (Lamiidhexaacetat)

Zusammensetzung: $C_{29}H_{38}O_{18}$
M = 674 (massenspektrometrisch)
Schmelzpunkt: 204-206°

IR:
3520 m, 2960 w, 1750 s, 1630 m, 1440 m, 1380 s, 1040 s, 1150 s, 1075 s, 1045 s, 980 w, 930 w, 900 w, 870 m, 810 w, 775 w, 760 w, 670 w cm^{-1}.

NMR (CD_3Cl_3):
7,36 s (1H), 5,82 s^+ (1H), 4,62-5,42 m (5H), 4,18-4,42 m (2H), 3,76 s (1H), 3,62-3,88 (1H), 3,17 s^+ (1H), 2,35-2,55 m (2H), 1,86-2,18 m (18H), 1,37 s (3H) ppm.

MS m/e (% Basispeak):
354 (1,5), 331 (25), 271 (14,7), 249 (17), 211 (11), 207 (33,8), 182 (28), 179 (22), 178 (21), 169 (99), 155 (61), 127 (35), 115 (42), 109 (54), 105 (55), 91 (44), 43 (100).

Der Vergleich des IR-Spektrums der Verbindung DP-A Ac II mit dem Spektrum des authentischen Lamiidhexaacetates zeigte Übereinstimmung in allen Einzelheiten. Die Mischschmelzpunkte zeigten keine Depression.

Eigenschaften der Verbindung DP-D1 (Durantosid I)

Zusammensetzung: $C_{26}H_{32}O_{13}$ (522)
M = 522 (massenspektrometrisch)
Farblose amorphe Substanz

UV (H_2O):
λ max 282 (ε = 19700), 224 (ε = 17500) nm.

IR:
3600-3200 s, 3010 w, 2950 w, 1700 s, 1630 s, 1600 w, 1500 w, 1440 m, 1360 m, 1290 s, 1235 m, 1210 s, 1175 s, 1085 s, 1025 m, 875 m, 815 w, 780 m, 720 w, 695 w cm^{-1}.

NMR (CD_3OD)+):
7,82 d (J = 17 Hz, 1 H), 7,58 s (1 H), 7,33-7,70 m (5H), 6,63 d (J = 17 Hz, 1 H), 5,92 s+ (1H), 4,62-5,03 m (2 H), 3,82 s (3H), 3,73-4,05 m (1H), 3,33-3,73 m (5H), 3,0 s+ (1H), 2,30-2,62 m (2H), 1,20 s (3H) ppm.

MS m/e (% Basispeak):
393 (0,3), 392 (0,3), 355 (0,2), 354 (0,2), 242 (0,4), 225 (2), 224 (3), 207 (6), 206 (21), 190 (8), 189 (7), 187 (6), 185 (4), 181 (4), 178 (15), 177 (18), 175 (10), 173 (9), 163 (13), 155 (4), 148 (84), 147 (100), 145 (7), 131 (60), 127 (4,5), 120 (12), 119 (15), 109 (3), 103 (78), 102 (39), 91 (51), 77 (87), 73 (27), 61 (18), 60 (25,7), 43 (54).

+) Die durch Isomere verursachten schwachen Signale sind nicht mit angeführt (s. Seite 69).

Eigenschaften der Verbindung DP-D2 (Durantosid II)

Zusammensetzung: $C_{27}H_{34}O_{14}$ (582)

M = 582 (massenspektrometrisch)

Farblose amorphe Substanz

UV (H_2O):

λ max 310 (ε = 19900), 228 (ε = 19900), 189 (ε = 19300) nm.

IR:

3200-3600 s, 3010 w, 2950 w, 1700 s, 1630 s, 1600 s, 1510 s, 1440 m, 1420 w, 1360 m, 1290 s, 1260 s, 1210 m, 1175 s, 1085 s, 1040 m, 880 m, 840 m, 820 w, 790 w cm^{-1}.

NMR (CD_3OD)

7,78 d (J = 16 Hz, 1 H), 7,48 s (1H), 7,5-7,78 m (2H), 6,86-7,12 m (2H)? 6,48 d (J = 16 Hz, 1 H), 5,87 s^+ (1H), 4,53-5,0 m (2H), 384 s (3H), 376 s (3H), 367-3,97 m (1H), 3,22-3,46 m (5H), 2,98 s^+ (1H), 2,33-2,60 m (2H), 1,18 s (3H) ppm.

MS m/e (% Basispeak)

340 (0,1), 322 (2), 301 (0,2), 299 (0,3), 225 (3), 224 (2), 207 (8), 206 (14), 190 (5), 189 (4), 181 (7), 179 (16), 178 (100), 177 (31), 175 (7), 174 (4), 173 (2), 163 (18), 162 (9), 161 (69), 155 (3), 153 (5), 150 (6), 149 (8), 148 (5), 147 (13), 146 (5), 145 (8), 135 (15), 134 (11), 133 (36), 132 (20), 131 (3), 127 (1,5), 121 (18), 120 (5), 119 (13), 118 (10), 117 (11), 109 (3,5), 103 (15), 91 (27), 90 (18), 89 (28), 77 (34), 73 (12), 61 (8), 60 (10), 43 (45).

Eigenschaften der Verbindung DP-D3 (Durantosid III)

Zusammensetzung: $C_{28}H_{36}O_{15}$ (612)
M = 612 (massenspektrometrisch)
Farblose amorphe Substanz

UV (H_2O):
λ max 311 (ε = 14400), 226 (ε = 20600), 191 (ε = 21900) nm.

IR:
3200-3600 s, 2950 w, 1700 s, 1630 s, 1600 s, 1510 s, 1440 m, 1420 w, 1360 w, 1290 s, 1265 s, 1240 m, 1170 s, 1150 s, 1085 s, 1030 m, 880 m, 840 w, 820 w, 790 w cm^{-1}.

NMR (CD_3OD)
7,77 d (J = 17 Hz, 1H), 7,47 s (1H), 6,8-7,33 m (3H), 6,48 d(J = 17 Hz, 1H), 5,86 s^+ (1H), 4,55-4,97 m (2H), 3,67 s (3H), 3,83 s (3H), 3,76 s (3H), 3,67-3,97 m (1H), 3,18-3,53 m (5H), 2,97 s^+ (1H), 2,33-2,58 m (2H), 1,18 s (3H) ppm.

MS m/e (% Basispeak):
368 (0,3), 352 (0,4), 322 (0,8), 301 (1), 299 (2), 225 (7), 224 (4), 208 (16), 207 (9), 206 (14), 193 (9), 192 (5), 191 (8), 190 (10), 189 (6), 179 (18), 178 (68), 177 (24), 175 (10), 165 (9), 163 (19), 161 (43), 155 (5), 150 (10), 149 (16), 148 (37), 147 (56), 145 (9), 133 (27), 132 (16), 131 (43), 127 (6), 121 (22), 120 (10), 119 (20), 118 (17), 109 (12), 103 (56), 91 (62), 90 (18), 89 (25), 77 (75), 73 (40), 61 (25), 60 (37), 43 (100).

Alkalische Hydrolyse der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3

Je 100 mg DP-D1, DP-D2 oder DP-D3 wurden in Wasser gelöst und nach Zugabe von gesättigter Bariumhydroxydlösung fünf Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden die Lösungen schnell mit 1 N Schwefelsäure auf $p_H 3$ angesäuert und die entstandenen Niederschläge abfiltriert. Die wäßrigen Lösungen wurden mit Methylenchlorid ausgeschüttelt, mit Bariumcarbonat neutralisiert und zur Trockene eingedampft. In allen drei Fällen wurden farblose, amorphe Substanzen gewonnen (Tab. 13), die sich nach Mineralsäurenzusatz blau färbten und nach kurzer Zeit schwarze Polymerisate bildeten. Die Reaktionen nach TRIM fielen positiv aus. Bei der dc-analytischen Prüfung konnten keinerlei Unterschiede zwischen den drei Verbindungen festgestellt werden. Alle drei IR-Spektren waren identisch. Zur weiteren Untersuchung wurden die drei Verbindungen vereinigt (Arbeitsbezeichnung DP-DH).

Die bei $p_H 3$ entstandenen Niederschläge wurden mit Aceton ausgezogen und mit den Methylenchloridauszügen vereinigt. Nach dem Verdampfen der Lösungsmittel ergaben sich die betreffenden Zimtsäuren. Die dc-analytischen Vergleiche mit einer größeren Anzahl authentischer Zimtsäuren ergab die in Tab. 12 zusammengefaßten Ergebnisse.

Die abgetrennten Zimtsäuren DP-DS1, DP-DS2 und DP-DS3 wurden aus Wasser kristallisiert und mit den authentischen Zimtsäuren, die in Wasser umkristallisiert wurden, verglichen. Die Mischschmelzpunkte zeigten keine Depression. Der Vergleich der IR-Spektren zeigte Übereinstimmung in allen Einzelheiten.

Fließmittel	DP-DS1	authentische Zimtsäure	DP-DS2	authentische p-Methoxyzimtsäure	DP-DS3	authentische 3,4-Dimethoxyzimtsäure
1	0,50	0,60	0,54	0,54	0,50	0,49
2	0,54	0,54	0,52	0,52	0,50	0,50
3	0,43	0,43	0,40	0,40	0,38	0,38
4	0,42	0,43	0,35	0,35	0,23	0,23
5	0,61	0,61	0,58	0,58	0,53	0,53

1. Butanol/Toluol/Wasser 4:1:5
2. Toluol/Methanol/Eisessig 90:16:8
3. Benzol/Dioxan/Eisessig 90:25:4
4. N-Butyläther (wassergesättigt)/Eisessig 90:9
5. Butanol/Methanol/Wasser 4:1:5 (Oberphase

Tab. 12: DC-Prüfung der Zimtsäuren DP-DS1, DP-DS2 und DP-DS3

Ausgangs-verbindung	Zimtsäuren Arbeits-bezeichnung	Fp	Menge in mg	dc-identisch mit	Iridoidsäuren Arbeits-bezeichnung	Menge in mg
DP-D1	DP-DS1	133-134	16	Zimtsäure	DP-DH1	71
DP-D2	DP-DS2	170-171	20	p-Methoxyzimsäure	DP-DH2	65
DP-D3	DP-DS3	176-180	18	3,4-Dimethoxy-zimtsäure	DP-DH3	57

Tab. 13: Ergebnisse der alkalischen Hydrolyse der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3

Eigenschaften der Verbindung DP-DH (Lamiidsäure)

Zusammensetzung: $C_{16}H_{24}O_{12}$

M = 408 (massenspektroskopisch)

Farblose amorphe Substanz

IR:

3100-3600 s, 2920 m, 1640 s, 1545 s, 1410 s, 1230 m, 1150 s, 1080 s, 935 w, 890 m, 870 w, 810 w, 770 w cm^{-1}.

NMR:

7,19s(1H), 5,78 s^+ (1 H), 4,70-4,95 (1H), 3,30-4,05 m (7H), 2,73 s^+ (1 H), 2,24-2,42 m (2H), 1,18 s (3H) ppm.

MS m/e (% Basispeak):

208 (0,18), 192 (0,6), 178 (0,73), 177 (0,4), 176 (0.28), 175 (0,53), 174 (0,42), 173 (0,23), 163 (0,28), 161 (0,5), 155 (0,22), 148 (3,6), 147 (1,5), 138 (2), 133 (0,65), 131 (1,6), 129 (0,43), 128 (0,75), 127 (0,38), 123 (1,2), 119 (4,1), 115 (1,2), 109 (1,8), 103 (2), 102 (2,6), 97 (2,8), 94 (4), 91 (6,5), 85 (3,1), 77 (3,5), 74 (9), 73 (5,5), 61 (4,2), 60 (13), 57 (16), 45 (26), 44 (100), 43 (80).

Methylierung der Verbindung DP-DH

Die bei der alkalischen Hydrolyse entstandenen Lamiidsäuren wurden vereinigt (insgesamt 184 mg), in 80-proz. Methanol gelöst und mit Diazomethan methyliert (85). Die dc-Prüfung mit Butanol/Methanol/Wasser 4:1:5 (Oberphase) der Reaktionsprodukte zeigte, daß ein Gemisch aus Lamiid (Rf 0,23) und Lamiidsäure (Rf 0,083) vorlag. Dieses Gemisch wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Butanol/Methanol/Wasser 4:1:5 (Oberphase) getrennt. Nach Gelfiltration ergaben sich 38 mg der Verbindung DP-DHM.

Von der Verbindung DP-DHM wurden das IR-, NMR- und das Massenspektrum angefertigt. Das IR-Spektrum stimmte mit dem Spektrum des authentischen Lamiid in allen Einzelheiten überein. Die NMR-Spektren waren identisch. Die Massenspektren zeigten die gleichen Fragmente.

Acetylierung der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3

Je 100 mg der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3 wurden in Pyridin gelöst und 24 Stunden lang bei Raumtemperatur acetyliert. Die Aufarbeitung der Acetate erfolgte wie auf Seite 55 beschrieben wurde. Die dc-Prüfung zeigte, daß von jeder Verbindung zwei Acetate gebildet wurden (Tab. 14), die aus Wasser/Äthanol kristallisiert wurden.

Verbindung	Schmelzpunkt	Rf
DP-D1 Ac I	220-223	0,17
DP-D1 Ac II	199-204	0,24
DP-D2 Ac I	232-235	0,19
DP-D2 Ac II	161-166	0,25
DP-D3 Ac I	188-191	0,15
DP-D3 Ac II	-	0,19

Fließmittel Toluol/Aceton 8:2

Tab. 14: Eigenschaften der Acetate der Verbindungen DP-D1, DP-D2 und DP-D3

Eigenschaften der Verbindung DP-D1 Ac I (Durantosid I-Tetraacetat)

Zusammensetzung:

$C_{34}H_{40}O_{17}$ (720,68) Ber.: C 56,66 H 5,59

Gef.: C 56,40 H 5,87

Schmelzpunkt: 220-223°

IR:

3500 m, 2950 w, 1750 s, 1710 s, 1630 s, 1600 w, 1500 w, 1440 m, 1370 m, 1240 s, 1175 m, 1075 s, 990 m, 880 m, 820 w, 780 w, 645 w cm^{-1}.

NMR ($CDCl_3$):

7,77 d (J = 16 Hz, 1H), 7,45 s (1H), 7,22-7,60 m (5), 6,5 d (J = 16 Hz, 1H), 5,72 s^+ (1H), 4,73-5,50 (5H), 4,12-4,34 m (2H), 3,78 s (3H), 3,70-3,86 (1H), 2,95 s^+ (1H), 2,33-2,57 m (2H), 1,90-2,20 q (12H), 1,20 s (3H) ppm.

MS m/e (% Basispeak):

373 (0,32), 372 (0,42), 356 (0,36), 355 (1,5), 331 (25), 289 (0,31), 287 (0,47), 271 (13), 243 (0,42, 242 (0,47), 229 (2,2), 225 (4,2), 224 (18), 211 (5,7), 207 (19), 187 (3,1), 181 (3), 169 (100), 155 (8,4), 148 (21), 147 (18), 145 (7), 139 (5,2), 131 (25), 127 15), 115 (11), 109 (53), 103 (16), 97 (95), 91 (47), 81 (79), 77 (12), 43 (84).

Eigenschaften der Verbindung DP-D1 Ac II (Durantosid I-Pentaacetat)

Zusammensetzung: $C_{36}H_{42}O_{18}$
M = 762 (massenspektrometrisch)
Schmelzpunkt: 199-204°

IR:
3520 w, 2950 w, 1750 s, 1720 s, 1630 s, 1600 w, 1500 w, 1435 m, 1370 s, 1230 s, 1170 s, 1070 s, 990 m, 880 m, 780 w, 670 w, 645 w cm^{-1}.

NMR ($CDCl_3$):
7,74 d (J = 16 Hz, 1H), 7,48 s (1H), 7,22-7,55 m (5H), 6,43 d (J = 16 Hz, 1H), 5,86 s^+ (1H), 4,75-5,58 m (5H), 4,18-4,40 m (2H), 3,80 s (3H), 3,70-3,90(1H), 3,23 s^+ (1H), 2,38-2,62 (2H), 1,90-2,20 m (15H), 1,42 s (3H) ppm.

MS m/e (% Basispeak):
354 (0,28), 331 (6), 271 (2,8), 249 (1,4), 211 (2,1), 207 (3,3), 206 (2), 191 (1,9), 190 (4,4), 189 (3,3), 175 (4,4), 169 (28), 157 (6), 155 (2,8), 149 (15), 148 (11), 147 (17), 131 (18), 115 (15,5), 109 (17,8), 105 (7,8), 103 (21), 91 (15,5), 83 (14,4), 77 (23), 60 (19), 43 (100).

Eigenschaften der Verbindung DP-D2 Ac I (Durantosid II-Tetraacetat)

Zusammensetzung:

$C_{35}H_{42}O_{18}$ (750,71) Ber.: C 55,60 H 5,64

Gef.: C 56,13 H 5,93

Schmelzpunkt: 232-235°

IR:

3500 m, 2950 w, 1750 s, 1700 s, 1630 s, 1600 s, 1510 s, 1440 m, 1370 s, 1250 s, 1170 s, 1075 s, 1040 s, 990 m, 885 w, 840 w, 785 w cm^{-1}.

NMR ($CDCl_3$):

7,7 d (J = 16 Hz, 1H), 7,32 s (1H), 7,46-7,60 m (2H), 6,75-7,08 m (2H), 6,35 d (J = 16 Hz, 1H), 5,68 s^+ (1H), 4,67-5,34 m (5H), 4,12-4,33 m (2H), 3,82 s (3H), 3,75 s (3H), 3,57-3,90 (1H), 2,95 s^+ (1H), 2,33-2,53 m (2H), 1,80-2,15 q (12H), 1,18 s (3H) ppm.

MS m/e (% Basispeak):

402 (0,35), 385 (0,22), 367 (0,14), 331 (11), 289 (0,4), 271 (6,4), 242 (0,5), 229 (2,4), 225 (3,6), 224 (4,6), 211 (4,7), 207 (13), 178 (23), 177 (5,6), 169 (62), 161 (31), 157 (4), 155 (3,6), 147 (3,4), 145 (5,4), 139 (6), 133 (10), 127 (15), 121 (3,7), 118 (4), 115 (12), 109 (43), 103 (8,6), 98 (8,5), 97 (10), 91 (7,1), 89 (7,1), 85 (4,3), 81 (7,1), 79 (69), 77 (10), 43 (100).

Eigenschaften der Verbindung DP-D2 Ac II (Durantosid II-Pentaacetat)

Zusammensetzung: $C_{37}H_{44}O_{19}$
M = 792 (massenspektrometrisch)
Schmelzpunkt: 161-166°

IR:
3425 w, 2950 w, 2920 w, 1740 s, 1710 s, 1630 m, 1600 m 1500 w, 1430 w, 1360 m, 1220 s, 1150 m, 1060 m, 990 w, 865 w, 820 w, 770 w cm^{-1}.

MS m/e (% Basispeak):
402 (0,06), 401 (0,1), 385 (0,6), 367 (0,4), 331 (10), 271 (6), 249 (4), 229 (1,3), 211 (4), 207 (9), 178 (16), 177 (5), 169 (56), 161 (40), 155 (3), 145 (5), 139 (5,3), 133 (10), 127 (8), 115 (12), 109 (27), 103 (7), 98 (8), 97 (7), 91 (7), 83 (9), 77 (8), 60 (5,6), 43 (100).

Eigenschaften der Verbindung DP-D3 Ac I (Durantosid III-Tetraacetat)

Zusammensetzung:

$C_{36}H_{44}O_{19}$ (780,73) Ber.: C 55,38 H 5,68

Gef.: C 54,12 H 5,96

Schmelzpunkt: 188-191°

IR:

3500 m, 2950 w, 1750 s, 1710 s, 1630 s, 1600 m, 1510 s, 1440 m, 1370 s, 1250 s, 1165 s, 1145 s, 1080 s, 990 m, 880 m, 820 w, 790 w cm^{-1}.

NMR ($CDCl_3$):

7,70 d (J = 16 Hz, 1H), 7,34 s (1H), 6,72-7,32 m (3H), 6,38 d (J = 16 Hz, 1H), 5,68 s^+ (1 H), 4,67-5,35 m (5H), 4,08-4,42 m (2H), 3,92 s (3H), 3,90 s (3H), 3,77 s (3H), 3,56-4,05 (1H), 2,98 s^+ (1H), 2,35-2,57 m (2H), 1,86-2,18 q (12H), 1,20 s (3H) ppm.

MS m/e (% Basispeak):

432 (0,16), 415 (0,08), 397 (0,06), 331 (10), 289 (0,23), 271 (3,5), 242 (0,29), 229 (1,6), 225 (2,8), 224 (1,7), 211 (3,4), 209 (2,3), 208 (19), 207 (8,9), 193 (61), 191 (12), 175 (1,6), 169 (36), 163 (2,8), 161 (1,5), 157 (2,7), 155 (2), 147 (3,7), 145 (3,4), 139 (4,2), 133 (2,4), 127 (9), 115 (8), 109 (28), 103 (6,8), 98 (5,7), 97 (6,5), 91 (7,7), 85 (3), 81 (4,8), 79 (2,8), 77 (7,5), 43 (100).

Eigenschaften der Verbindung DP-D3 Ac II (Durantosid III-Pentaacetat)

Zusammensetzung: $C_{38}H_{46}O_{20}$
M = 822 (massenspektrometrisch)

IR:
3520 w, 2950 w, 1750 s, 1710 s, 1630 m, 1600 m, 1510 s, 1440 m, 1370 m, 1230 s, 1170 s, 1070 s, 1050 s, 990 m, 880 w, 840 w, 830 w, 785 w cm^{-1}.

NMR ($CDCl_3$):
7,60 d (J = 16 Hz, 1H), 7,35 s (1H), 6,72-7,68 m (3H), 6,41 d (J = 16 Hz, 1H), 5,82 s^+ (1H), 4,68-5,53 (5H), 4,16-4,36 m (2H), 3,92 s (3H), 3,84 s (3H), 3,78 s (3H), 3,58-4,02 (1H), 3,26 s^+ (1H), 2,35-2,60 m (2H), 1,92-2,24 m (15H), 1,30 s (3H) ppm.

MS m/e (% Basispeak):
492 (0,04), 474 (0,18), 432 (0,06), 415 (0,22), 402 (0,18), 397 (0,11) 385 (0,2), 331 (10), 271 (3,7), 249 (1,7), 229 (1,2), 225 (1,1), 224 (1,3), 211 (2,5), 208 (6,6), 207 (8,8), 191 (10), 178 (9), 177 (2,7), 169 (45,5), 163 (4,1), 161 (16,6), 157 (4,2), 155 (2,6), 147 (3,3), 145 (4,3), 139 (4,4), 133 (6,1), 127 (10), 115 (11), 109 (31), 103 (7,7), 98 (7,8), 97 (7,5), 91 (7,2), 89 (4,7), 85 (3,5), 81 (6,5), 77 (8,3), 43 (100).

V DISKUSSION

Wie in der Einleitung dargelegt wurde, soll die vorliegende Arbeit die Kenntnisse über die Verbreitung der iridoiden Inhaltsstoffe innerhalb der Familie der Verbenaceae erweitern. Mit der Isolierung und Identifizierung der vier C_{10}-Iridoide Lamiid, Durantosid I, Durantosid II und Durantosid III aus Duranta repens L. konnte das Auftreten dieser Verbindungen in einer weiteren Gattung der Verbenaceae nachgewiesen werden. Bemerkenswert erscheint es, daß darüber hinaus in Chascanum cernuum L. ebenfalls die Verbindung Lamiid, in verhältnismäßig hoher Konzentration nachgewiesen werden konnte (71). Die Stellung der Gattungen Chascanum und Duranta innerhalb der Verbenoideae ist bisher umstritten. Während die Gattungen Chascanum und Bouchea einerseits, Duranta und Citharexylum andererseits jeweils in enge Verwandschaft zueinander gesetzt werden, wurden diese beiden Gruppen bisher verschiedenen Triben zugeordnet (Tab. 15). EL-GAZZAR und WATSON fassen die Gattungen Bouchea, Stachytarpheta, Petrea und Citharexylum erstmals zu einer Gruppe zusammen. Dabei dürfte die gebildete taxonomische Einheit etwa einem Tribus entsprechen. EL-GAZZAR und WATSON verwendeten für ihre numerische Analyse insgesamt 46 morphologisch-anatomische Merkmale. Die von ihnen vorgeschlagene Anordnung der Gattungen kann daher zur Zeit als am besten begründet gelten. Die Akkumulation des gleichen Iridoids (Lamiid) in je einer Art der Gattungen Chascanum und Duranta ist ein chemotaxonomischer Hinweis auf die nahe Verwandschaft dieser Gattungen, der die Auffassung EL-GAZZARs und WATSONs bekräftigt.

SCHAUER (1847)	BRIQUET (1894)	MOLDENKE (1959)	MELCHIOR (1964)	EL-GAZZAR und WATSON
Verbeneae	Lantaneae	Lantaneae	Citharexyleae	Gruppe 745
Priva	Lantana	Lantana	Duranta	Lippa
Verbena	Lippa	Lippa	Citharexylum	Lantana
Bouchea inkl.	Baillonia	Bouchea	Lantaneae	Gruppe 743
Chascanum	Bouchea inkl.	Chascanum	Lantana	Verbena
Stachytarpheta	Chascanum	Stachytarpheta	Lippa	Priva
Lippa	Neosparton	Ubochea	Bouchea inkl.	Gruppe 742
Duranteae	Stachytarpheta	Priva	Chascanum	Bouchea = Chascanum
Citharexylum	Ubochea	Petrea	Stachytarpheta	Stachytarpheta
Duranta	Citharexyleae	Citharexyleae		Petrea
	Coelocarpus	Duranta		Citharexylum
	Rhaphithamnus	Baillonia		
	Citharexylum	Citharexylum		
	Duranta	Coelocarpum		
		Rhaphithamnus		

Tab. 15: Systematik der Gattungen Bouchea, Chascanum, Citharexylum und Duranta

VI ZUSAMMENFASSUNG

Von dem Äthanolextrakt aus Duranta repens L. wurde durch Chromatographie an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol der hydrophile Anteil abgetrennt. Nach Vorreinigung über Aluminiumoxid wurde dieser Extrakt dann durch Chromatographie an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol/Wasser in zwei iridoidhaltige Fraktionen aufgetrennt. Die hydrophilere Fraktion enthielt eine einheitliche Verbindung, die als Lamiid (DP-A) identifiziert wurde. Die lipophilere Fraktion erwies sich als ein Gemisch dreier bisher nicht bekannter Verbindungen, die als Durantosid I (DP-D1), Durantosid II (DP-D2) und Durantosid III (DP-D3) bezeichnet wurden.

Durantosid I konnte als Zimtsäureester, Durantosid II als p-Methoxyzimtsäureester und Durantosid III als 3,4-Dimethoxyzimtsäureester des Lamiid identifiziert werden. Die Cinnamoylreste sind an die sekundäre Hydroxygruppe C (7) des Lamiid gebunden.

Die Isolierung und Identifizierung der vier beschriebenen Iridoide wurde zum Anlaß genommen, die chemosystematische Bedeutung dieser Stoffgruppe zu diskutieren, insbesondere im Hinblick auf die Verwandschaft der Gattungen Duranta und Chascanum.

VII LITERATURANGABEN

(1) G. GRESHOFF, Mededeelingen uit Slands Plantentuin 25, 156 (1889)

(2) L. BOURDIER, Compt. Rend. Soc. Biol. 63, 367 (1908). Chem. Abstr. 2, 661 (1908)

(3) J. CHEYMOL, Diss. Paris (1937)

(4) O. HALPERN u. H. SCHMID, Helv. Chim. Acta 41, 1109 (1958)

(5) G. BÜCHI u. R.E. MANNING, Tet. Let. 26, 5, (1960)

(6) E. WINDE, Diss. Berlin (1959)

(7) V. PLOUVIER u. J. FAVRE-BOVIN, Phytochem. 10, 1697 (1971)

(8) P. KOOIMAN, Acta Bot. Neerl. 18, 124 (1969). 19, 124 (1969)

(9) P. KOOIMAN, Acta Bot. Neerl. 19, 329 (1970)

(10) P. KOOIMAN, Acta Bot. Neerl. 21, 417 (1972)

(11) J. BRIQUET in Engler & Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien, IV 3a, Leipzig (1897)

(12) EL-GAZZAR u. L. WATSON, New Phytol. 69, 451 (1970)

(13) R. WUNDERLICH, Öst. Bot. Ztg. 114, 383 (1967)

(14) T.A. GEISSMANN, W.F. KNAACK, Jr. u. J.O. KNIGHT, Tet. Let. 1245 (1966)

(15) M.W. WENDT, W. HAEGELE, E. SIMONITSCH u. H. SCHMID, Helv. Chim. Acta 43, 1440 (1960)

(16) L.H. BRIGGS, B.F. CAIN, P.W. LE-QUENSE u. J.N. SHOOLERY, Tet. Let. 69 (1963)

(17) G.W.K. CAVILL, D.L. FORD u. H.D. LOCKLEY, Austral. J. Chem. 9, 288 (1956)

(18) J.H. RICHARDS u. J.B. HENDRICKSON, The Biosynthesis of Steroids, Terpenes and Acetogenins. W.A. Benjamin INC. New York/Amsterdam (1964)

(19) D.A. YEOWELL u. H. SCHMIDT, Experientia 20, 252 (1964)

(20) R.M. BOWMAN u. E. LEETE, Phytochem. 8, 1003 (1969)

(21) J.E.S. HÜNI, H. HILTEBRAND, H. SCHMID, D. GRÖGER, S. JOHNE u. K. MOTHES, Experientia 22, 656 (1966)

(22) A.R. BATTERSBY, R.S. KAPIL u. R. SOUTHGATE, Chem. Com. 131 (1968)

(23) S. BRECHBÜHLER-BADER, C.J. COSCIA, P. LOEW, Ch. von SZCZEPANSKI u. D. ARIGONI, Chem. Com. 136 (1968)

(24) H. INOUYE, S. UEDA, Y. AOKI u. Y. TAKEDA, Tet. Let. 2351 (1969)

(25) H. INOUYE, S. UEDA u. Y. TAKEDA, Tet. Let. 3351 (1970)

(26) C.J. COSCIA u. R. GUARNACCIA, Chem. Com. 138 (1968)

(27) H. INOUYE, S. UEDA, Y. NAKAMURA, Tet. Let. 3221 (1967)

(28) H. INOUYE, S. UEDA u. Y. TAKEDA, Tet. Let. 3453 (1968)

(29) H. INOUYE, S. UEDA u. Y. TAKEDA, Tet. Let. 407 (1969)

(30) H. INOUYE, S. UEDA u. Y. TAKEDA, Tet. Let. 4069 (1971)

(31) H. INOUYE, S. UEDA, K. INOUYE u. Y. TAKEDA, Tet. Let. 4073 (1971)

(32) R. THOMAS, Tet. Let. 544 (1961)

(33) E. WENKERT, J. Amer. Chem. Soc. 84, 98 (1962)

(34) H. GOEGGEL u. D. ARIGONI, Experientia 21, 369 (1965) Chem. Com. 538 (1965)

(35) F. MC CAPRA, T. MONEY, A.I. SCOTT u. I.G. WRIGHT, Chem. Com. 537 (1965)

(36) R.T. BROWN, R.S. KAPIL, A.O. PLUNKETT u. J.B. TAYLOR Chem. Com. 46 (1966)

(37) A.R. BATTERSBY, R.T. BROWN, J.A. KNIGHT, J.A. MARTIN u. A.O. PLUNKETT, Chem. Com. 346 (1966)

(38) P. LOEW, H. GOEGGEL u. D. ARIGONI, Chem. Com. 347 (1966)

(39) E.S. HALL, F. MC CAPRA u. T. MONEY, Chem. Com. 348 (1966)

(40) A.R. BATTERSBY, R.T. BROWN, R.S. KAPIL, J.A. KNIGHT, J.A. MARTIN u. A.O. PLUNKETT, Chem. Com. 888 (1966)

(41) A.R. BATTERSBY, R.T. BROWN, R.S. KAPIL, J.A. MARTIN u. A.O. PLUNKETT, Chem. Com. 890 (1966)

(42) A.R. BATTERSBY, R.S. KAPIL, J.A. MARTIN u. L. MO, Chem. Com. 133 (1968)

(43) A.R. BATTERSBY u. B. GREGORY, Chem. Com. 134 (1968)

(44) P. LOEW u. D. ARIGONI, Chem. Com 137 (1968)

(45) A.A. QURESHI u. A.I. SCOTT, Chem. Com. 945 (1968)

(46) A.R. BATTERSBY, J.C. BYRNE, R.S. KAPIL, J.A. MARTIN u. T.G. PAYNE, Chem. Com. 951 (1968)

(47) P. LOEW, Ch. von SZCZEPANSKI, C.J. COSCIA u. D. ARIGONI, Chem. Com. 1276 (1968)

(48) A.R. BATTERSBY, A.R. BURNETT, G.D. KNOWLES u. P.G. PARSONS, Chem. Com. 1277 (1968)

(49) A.R. BATTERSBY, A.R. BURNETT, u. P.G. PARSONS, Chem. Com. 1280 (1968)

(50) A.R. BATTERSBY, A.R. BURNETT u. P.G. PARSONS, Chem. Com. 1282 (1968)

(51) A.R. BATTERSBY, A.R. BURNETT, E.S. HALL u. P.G. PARSONS, Chem. Com. 1582 (1968)

(52) A.R. BATTERSBY u. E.S. HALL, Chem. Com. 793 (1969)

(53) A.R. BATTERSBY, A.K. BHATNAGAR, Chem. Com. 193 (1970)

(54) A.R. BATTERSBY u. E.S. HALL, Chem. Com. 194 (1970)

(55) A.R. BATTERSBY u. K.H. GIBSON, Chem. Com. 902 (1971)

(56) A.R. BATTERSBY u. R.J. PARRY, Chem. Com. 901 (1971)

(57) J.C. SCHAUER in De Candolle, Prodromus XI

(58) S. JUNELL, Symb. Bot. Upsal. 4, 1 (1934)

(59) H.N. MOLDENKE, A resume of the Verbenaceae, Stilbaceae, Symphoremaceae and Ericaulaceae of the World as to valid Taxa, Geogr. Distrib. a. Synonymy, priv. printed (1959)

(60) J.C. WILLIS, A.K. AIRY SHAW, Dictionary of Flowering Plants and Farns, Cambridge (1966)

(61) H. MELCHIOR, in A. Englers Syllabus der Pflanzenfamilien, Bd. 2 12. Aufl., Bornträger, Berlin (1964)

(62) A. TAKHTAJAN, Evolution und Ausbreitung der Blütenpflanzen, G. Fischer, Stuttgart (1973)

(63) R. HEGNAUER, Chemotaxonomie der Pflanzen, VII, Birkhäuser, Basel u. Stuttgart (1973)

(64) E. WINDE u. R. HÄNSEL, Archiv der Pharm. 293, 556 (1960)

(65) C.J. ZUFALL u. RICHTMANN, A pharmacognostical study of certain American species of Verbena, Pharmaceut. Arch. 14 (4): 60-64, (5): 65-80, (6): 81-96. 9 fig. 1943, 15 (1): 1-9. 1944.

(66) R. HÄNSEL, Ch. LEUCKERT, H. RIMPLER u. K.D. SCHAAF, Phytochem. 4, 19 (1965)

(67) H. RIMPLER, Phytochem. 11, 2653 (1972)

(68) H. RIMPLER, Arch. d. Pharm. 305, 746 (1972)

(69) H. RIMPLER u. B. SCHÄFER, Tet. Let. 17, 1463 (1973)

(70) J. CHEYMOL, Diss. Paris (1937)

(71) H. RIMPLER, Phytochem. 11, 3094 (1972)

(72) H. RIMPLER, Phytochem. 11, 3096 (1972)

(73) H. RIMPLER u. H. PISTOR, Z. Naturforsch. 29c, 368 (1974)

(74) Th. PECKOLT, Ber. d. Deutsch. Pharm. Ges., 14. Jahrg. Berlin (1904)

(75) R.S. KAPIL, Indian Chem. Soc. 37, 697 (1960)

(76) R.N. CHOPRA, R.L. BADHWAR a. S.L. NAYAR, Hist. Soc. 42, 854 (1941)

(77) F. YOUSEF, S.K. WAHBA KHALIL a. S.P. PAPPAS, Plant. Med. 23, 173 (1973)

(78) S. SANKARA SUBRAMANIAN a. A.G.R. NAIR, Phytochem. 11 3095 (1972)

(79) A.R. TRIM u. R. HILL, Biochem. J. 50, 310 (1952)

(80) W.I. TAYLOR a. A.R. BATTERSBY, Cyclopentanoid Terpene Derivatives, Marcel Dekker, INC., New York (1969)

(81) K. WEINGES, P. KLOSS u. W.D. HENKELS, Liebigs Ann. Chem. 795, 173 (1972)

(82) T.W. BENTLEY, R.A.W. JOHNSTONE u. J. GRIMSHAW J. Chem. Soc. (London), Ser. C 1967, 2234

(83) M.L. SCARPATI, M. GUISO u. P. ESPOSITO, Gazz. Ital. 98, 177 (1968)

(84) H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI u. D.H. WILLIAMS
Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry
Vol. II, Holden-Day, San Francisco 1964

(85) Th.J. BOER u. H.J. BACKER, Org. Syn. 36, 16 (1956)

VIII LEBENSLAUF

Am 27. August 1947 wurde ich als Sohn des Schneidermeisters Heinrich Timm und seiner Ehefrau Dora, geborene Peil, in Berlin-Lichtenrade geboren.

In den Jahren 1954 bis 1960 besuchte ich die 14. Grundschule und die Ruppin-Grundschule in Berlin. Anschließend wechselte ich auf die Friedrich Bergius-Mittelschule über und erhielt dort 1964 das Zeugnis der Mittleren Reife. Darauf setzte ich den Schulunterricht am Menzel-Gymnasium fort und erhielt 1967 das Zeugnis der Reife.

Meine pharmazeutische Ausbildung begann ich als Praktikant in der Apotheke des Städtischen Krankenhauses Moabit und setzte sie im zweiten Jahr in der Hohenzollerndammapotheke fort. 1969 bestand ich die Pharmazeutische Vorprüfung in Berlin. Anschließend erhielt ich die Zulassung zum Studium der Pharmazie an der Freien Universität Berlin. Im Frühjahr 1972 bestand ich die Pharmazeutische Prüfung an derselben Universität. Im Mai 1972 erhielt ich die Approbation als Apotheker.

Seit September 1972 beschäftige ich mich mit der vorliegenden Arbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr. H. Rimpler am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin.

Ich bin verheiratet und habe ein Kind.